

**UNIVERSIDADE DE LISBOA**

**FACULDADE DE MEDICINA**

Trabalho Final do Mestrado Integrado em Medicina



## **Púrpura Trombocitopénica Trombótica**

Revisão Teórica

Ana Rita Faísco Pereira

Lisboa, 2015

**UNIVERSIDADE DE LISBOA**

**FACULDADE DE MEDICINA**

Trabalho Final do Mestrado Integrado em Medicina



## **Púrpura Trombocitopénica Trombótica**

Revisão Teórica

**Professor responsável pela Clínica Universitária de Hematologia:** Professor Doutor João Forjaz Lacerda, Serviço de Hematologia e Transplantação de Medula, Centro Hospitalar Lisboa Norte, EPE – Hospital de Santa Maria (CHLN - HSM)

**Orientador:** Dr. Carlos Martins, Serviço de Hematologia e Transplantação de Medula, Centro Hospitalar Lisboa Norte, EPE – Hospital de Santa Maria (CHLN - HSM)

Ana Rita Faísco Pereira

Lisboa, 2015

Todas as afirmações contidas neste trabalho são da exclusiva responsabilidade do candidato, não cabendo à Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa qualquer responsabilidade.

## **Agradecimentos**

Agradeço ao Prof. Doutor João Forjaz Lacerda e ao Dr. Carlos Martins pela disponibilidade e orientações.

## Resumo

O termo microangiopatia trombótica (MAT) engloba várias doenças caracterizadas por anemia hemolítica microangiopática, agregação plaquetária e falência de órgão de gravidades variáveis.

A púrpura trombocitopénica trombótica (PTT) é uma forma particular de MAT. Na maioria dos doentes, a metaloprotease ADAMTS13 encontra-se gravemente diminuída. Actualmente, reconhecem-se duas formas de deficiência grave da enzima: a forma adquirida, causada por auto-anticorpos (ac) que inibem a actividade ou aumentam a clearance da ADAMTS13, e a forma hereditária resultante de mutações bi-alélicas no gene codificador da enzima.

A ADAMTS13 está envolvida na clivagem dos multímeros do factor von Willebrand (FvW) de muito alto peso molecular, altamente hemostáticos, em formas mais pequenas e menos adesivas. Quando a ADAMTS13 se encontra deficiente, a falha em degradar os multímeros do FvW de muito alto peso molecular leva a agregação plaquetária excessiva e a oclusão capilar.

O diagnóstico da PTT é feito primariamente através da combinação de sinais e sintomas, análise da actividade da ADAMTS13 e detecção de ac anti-ADAMTS13.

O tratamento de primeira linha para a PTT inclui troca de plasma, que remove os auto-ac (na PTT adquirida) e fornece ADAMTS13 funcional, e corticosteróides destinados ao componente auto-imune da PTT adquirida.

Os doentes que sobrevivem a um episódio agudo de PTT têm alto risco de recaída. Anomalias cognitivas minor e frequência aumentada de depressão e hipertensão arterial são sequelas a longo prazo comuns.

O conhecimento da patogénese, diagnóstico, tratamento e *outcomes* da PTT acelerou nos últimos anos. O objectivo desta revisão é fornecer uma perspectiva unificada desta MAT, reconhecendo simultaneamente as controvérsias ainda existentes e indicando possíveis direcções de investigações futuras.

## ***Abstract***

*Thrombotic microangiopathies (TMA) encompass various diseases characterized by microangiopathic hemolytic anemia, platelet clumping and organ failure of variable severity.*

*Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is a particular form of TMA. In the majority of TTP patients, metalloprotease ADAMTS13 is severely deficient. Today, two forms of severe enzymatic deficiency are recognized. Acquired form is caused by autoantibodies inhibiting ADAMTS13 activity or increasing ADAMTS13 clearance. Hereditary form results from bi-allelic mutations in ADAMTS13 gene.*

*ADAMTS13 is specifically involved in the cleavage of highly hemostatic unusually large (UL) von Willebrand factor (vWF) multimers into smaller and less adhesive vWF forms. When ADAMTS13 is deficient, failure to degrade these UL-vWF multimers leads to excessive platelet aggregates and capillary occlusion.*

*Diagnosis of TTP is primarily made through a combination of signs and symptoms, analyses of plasma ADAMTS13 activity and detection of anti-ADAMTS13 antibodies.*

*Current frontline treatments for TTP include plasma exchange, which removes auto-antibodies (in acquired TTP) and provides functional ADAMTS13, and steroids to treat the autoimmune component of acquired TTP.*

*Survivors of acute TTP are at high risk for relapse. Minor cognitive abnormalities and increased frequency of depression and hypertension are common long-term outcomes.*

*Knowledge of the pathogenesis, diagnosis, management and outcomes of TTP has accelerated in the recent years. The objective of this review is to provide a unified perspective of this primary TMA while recognizing the ongoing controversies and indicating the directions of future research.*

# Índice

<b>Lista de abreviaturas .....</b>	<b>viii</b>
<b>Lista de figuras .....</b>	<b>iv</b>
<b>Lista de tabelas .....</b>	<b>x</b>
<b>Lista de gráficos.....</b>	<b>xi</b>
<b>I. Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>II. Critérios Diagnósticos.....</b>	<b>4</b>
<b>III. Epidemiologia.....</b>	<b>4</b>
1. Incidência .....	4
2. Factores protectores e factores de risco da PTT adquirida idiopática .....	4
<b>IV. Papel fisiológico da ADAMTS13 e do FvW .....</b>	<b>5</b>
<b>V. Papel fisiopatológico da ADAMTS13 e do FvW.....</b>	<b>11</b>
<b>VI. Causas da deficiência grave da ADAMTS13.....</b>	<b>12</b>
<b>VII. Factores desencadeantes .....</b>	<b>14</b>
<b>VIII. Outros mecanismos patogénicos .....</b>	<b>15</b>
<b>IX. Histopatologia.....</b>	<b>15</b>
<b>X. Diagnóstico .....</b>	<b>16</b>
1. Apresentação clínica.....	16
2. Exames complementares de diagnóstico .....	17
2.1. Análises laboratoriais padrão .....	17
2.2. Outros exames complementares de diagnóstico .....	18
2.3. Análises laboratoriais especializadas.....	18
<b>XI. Tratamento .....</b>	<b>21</b>
1. Tratamento da PTT adquirida .....	21
1.1. Troca de plasma .....	21
1.2. Terapêutica imunossupressora .....	22
1.3. Esplenectomia .....	23
1.4. Agentes anti-plaquetários .....	23
1.5. Terapêutica de suporte.....	23

2. Tratamento da PTT hereditária .....	24
3. Novos tratamentos .....	24
<b>XII. Outcomes</b> .....	25
1. <i>Outcomes</i> a curto prazo .....	25
1.1. Resposta à troca de plasma.....	25
1.2. Mortalidade .....	26
1.3. Exacerbação .....	27
2. Outcomes a longo prazo .....	27
2.1. Recaída .....	28
2.2. Sequelas .....	28
2.3. Doenças auto-imunes.....	29
<b>XIII. Conclusão</b> .....	30
<b>XIV. Bibliografia</b> .....	32



## Lista de abreviaturas

**Ac** – Anticorpo/s

**ADAMTS13** - *A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motives, 13<sup>th</sup> member*

**Ag** – Antígeno/s

**CF** – *Complement factor*

**CD** – *Cluster of differentiation*

**FRA** – Falência renal aguda

**FvW** – Factor de von Willebrand

**Hb** – Hemoglobina

**HLA** - *Human Leukocyte Antigen*

**IMC** – Índice de massa corporal

**IRA** – Insuficiência renal aguda

**LDH** – Lactato desidrogenase láctica

**LES** – Lúpus eritematoso sistêmico

**MAT** – Microangiopatia/s trombótica/s

**PTT** – Púrpura trombocitopénica trombótica

**RM** – Ressonância magnética

**SHU** – Síndrome hemolítica urémica

**SHUa** – Síndrome hemolítica urémica atípica

**SNC** – Sistema nervoso central

**TC** – Tomografia computadorizada

**TP** – Troca de plasma

**TSP** – Repetição/ões trombospodina

**VEGF** – Vascular endotelial growth factor

## **Lista de figuras**

<b>Figura 1</b> – Organização dos domínios do FvW.	5
<b>Figura 2</b> – Papel fisiológico do FvW.	7
<b>Figura 3</b> – Organização dos domínios da ADAMTS13.	8
<b>Figura 4</b> – Modelo de interacção multietápico entre o FvW e a ADAMTS13.	10
<b>Figura 5</b> – Possíveis locais de proteólise do FvW pela ADAMTS13.	11
<b>Figura 6</b> – Deficiência grave da ADAMTS13.	12
<b>Figura 7</b> – Mapa de epítomos.	13

## **Lista de tabelas**

<b>Tabela 1</b> – Microangiopatias trombóticas primárias.	2
<b>Tabela 2</b> – Microangiopatias trombóticas secundárias.	3
<b>Tabela 3</b> – Factores de risco demográficos da PTT adquirida.	5
<b>Tabela 4</b> – Estrutura e função dos diferentes constituintes do FvW.	6
<b>Tabela 5</b> – Estrutura e função dos diferentes constituintes da enzima ADAMTS13.	9
<b>Tabela 6</b> – Frequência dos diferentes sintomas e sinais na PTT.	17
<b>Tabela 7</b> – Valores prognóstico e preditivo dos testes ADAMTS13.	20
<b>Tabela 8</b> – Exemplos de complicações major relacionadas com a TP.	24
<b>Tabela 9</b> – Frequência de complicações major e de mortes relacionadas com a TP.	24
<b>Tabela 10</b> – Novos tratamentos para a PTT.	25

## Lista de gráficos

**Gráfico 1** – Publicações disponíveis no *Pubmed*, quando se pesquisa por “thrombotic thrombocytopenic purpura”. 3

## I. Introdução

O termo MAT foi primeiramente utilizado, em 1952, para descrever os achados *post-mortem* de “trombose disseminada dos vasos de menor calibre”<sup>1</sup>. Actualmente, nomeia um grupo heterogéneo e diversificado de síndromes trombóticas microangiopáticas, as quais podem ser primárias ou secundárias, hereditárias ou adquiridas, iniciar-se súbita ou insidiosamente<sup>2-5</sup>. A etiologia, a resposta ao tratamento com plasma e o prognóstico também diferem entre as síndromes<sup>2-5</sup>. Contudo, apesar da sua diversidade, as MAT apresentam características patológicas, histológicas e clínicas comuns<sup>2-5</sup>. O processo patológico caracteriza-se por trombose microvascular, oclusiva, generalizada, predominantemente arteriolar e capilar<sup>2-5</sup>, tendo como causa subjacente a anormal agregação de plaquetas ou a lesão e activação das células endoteliais<sup>6</sup>. As características histológicas típicas são o espessamento da parede vascular com edema do endotélio, destacamento das células endoteliais da membrana basal, necrose fibrinóide da parede vascular e formação de microtrombos ricos em fibrina e plaquetas<sup>6</sup>. Clinicamente, as MAT manifestam-se, de forma transversal, por trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática e sintomas e sinais variáveis de isquemia de órgão<sup>2-5</sup>.

As MAT primárias ocorrem sem associação com outra doença ou condição subjacente<sup>3</sup>. A PTT e a síndrome hemolítica-urémica (SHU) típica correspondem às suas duas formas clássicas. A PTT foi primeiramente descrita por Eli Moschowitz, em 1924, e a SHU típica por Gasser, em 1955<sup>1,3</sup>. Alguns investigadores tentaram distinguir clinicamente estas síndromes, caracterizando a PTT como neurotrópica [devido à significativa disfunção do sistema nervoso central (SNC)] e a SHU como nefrotrópica (devido ao predominante envolvimento renal)<sup>3,7</sup>. No entanto, hoje sabe-se que as duas condições são muitas vezes indistinguíveis, clinicamente, podendo os doentes com PTT apresentar alterações renais e os doentes com SHU, manifestações extrarrenais<sup>2</sup>. Outros estudiosos, sem evidências patogénicas e clínicas definitivas para suportar uma clara distinção entre estas entidades, classificaram-nas com o nome genérico de PTT/SHU<sup>7</sup>. Actualmente, este termo deve ser evitado porque ele obscurece as diferenças conhecidas<sup>7</sup>.

Nos últimos anos, vários mecanismos moleculares foram identificados permitindo uma nova forma de classificação das MAT primárias (tabela 1)<sup>2-5</sup>. Particularmente, reconheceu-se que a PTT é causada pela deficiência grave de ADAMTS13, a SHU

atípica (SHUa) por defeitos em alguns factores do complemento e a SHU típica pela toxina Shiga (tabela 1). Esta classificação etiológica (em vez de clínica) parece ser um melhor guia prognóstico e terapêutico<sup>8</sup>.

Microangiopatias Trombóticas Primárias		
	Hereditárias	Adquiridas
<b>MAT mediada pela deficiência de ADAMTS13</b> (também chamada PTT)	■ PTT hereditária (originada por mutações no gene ADAMTS13)	■ PTT adquirida (originada por ac anti-ADAMTS13) □ Primária/ idiopática □ Secundária (por exemplo, secundária a tienopiridinas)
<b>MAT mediada pelo complemento</b> (também chamado SHUa)	■ SHUa hereditária [originada por mutações em genes do complemento, por exemplo, nos genes CFH (complement factor H), CFI, CFB e CD46 ( <i>cluster of differentiation 46</i> )]	■ SHUa adquirida (originada, por exemplo, por ac anti-CFH)
<b>MAT mediada pela toxina Shiga</b> (também chamado SHU típica)		(secundária a infecção entérica causada por bactérias produtoras de toxina Shiga como <i>Escherichia coli</i> ou <i>Shigella dysenteriae</i> )
<b>MAT mediada pelo metabolismo</b>	(o metabolismo anormal da cobalamina está associado com activação plaquetária, produção de espécies reactivas de oxigénio, disfunção endotelial, entre outros)	
<b>MAT mediada pela coagulação</b>	(mutações nos genes da diacilglicerol cinase, plasminogénio e trombomodulina têm sido associadas com MAT)	
<b>MAT mediada por fármacos</b>		■ Toxicidade imuno-mediada (o quinino é a causa mais comum, estando associado a ac contra múltiplos tecidos) ■ Toxicidade dose-dependente (associada a múltiplos mecanismos patológicos e a vários fármacos: inibidores do VEGF – bevacizumab, sunitinib; imunossupressores – ciclosporina, tacrolimus, sirolimus; agentes quimioterápicos – gencitabina, mitomicina)

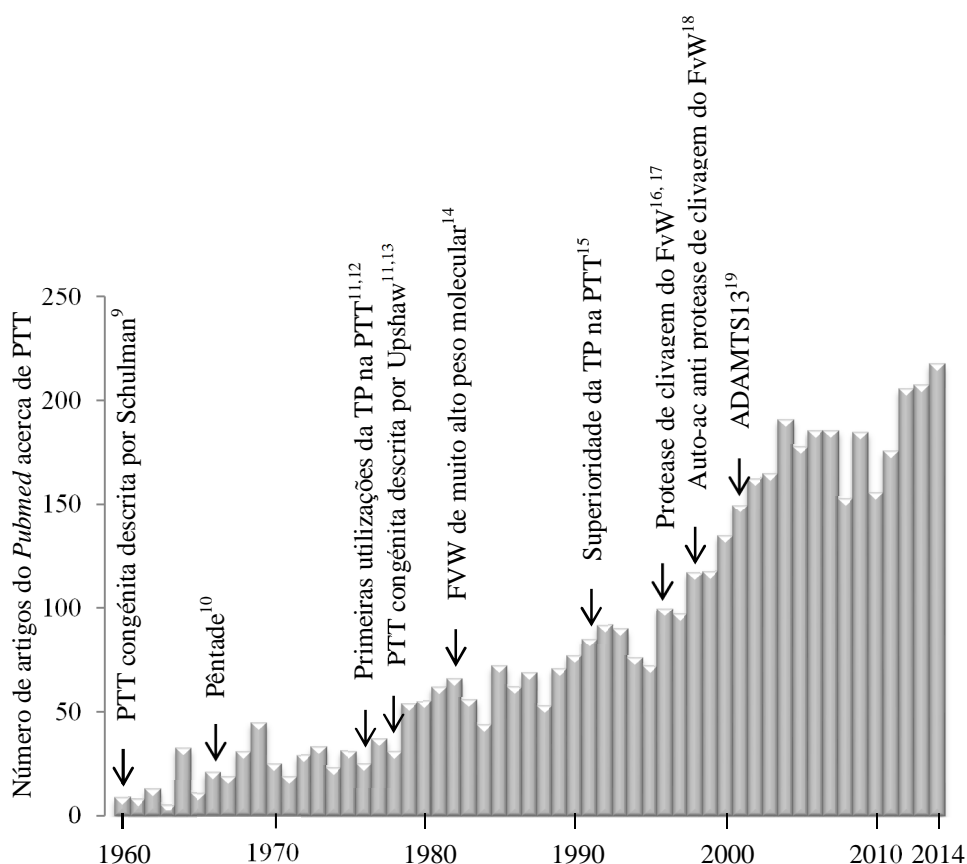
**Tabela 1** – Microangiopatias trombóticas primárias. Adaptada de George JN *et al.* (2014)<sup>5</sup>.

Contrariamente às MAT primárias, as MAT secundárias ocorrem em associação com outra doença ou condição subjacente<sup>3</sup> como a gravidez, o transplante de órgãos sólidos, o transplante de células estaminais hematopoiéticas, neoplasias malignas disseminadas, doenças auto-imunes, procedimentos e dispositivos cardiovasculares, infecções e hipertensão arterial grave (tabela 2). Pensa-se que a causa primordial destas formas secundárias seja a lesão e a activação das células endoteliais<sup>3</sup>.

Microangiopatias Trombóticas Secundárias	
<b>MAT associada à gravidez</b>	Síndrome HELLP, pré-eclâmpsia, eclâmpsia
<b>MAT pós-transplante</b>	Transplante de órgãos sólidos, transplante de células estaminais hematopoiéticas
<b>MAT associada a neoplasia maligna</b>	Frequentemente disseminada
<b>MAT associada a doenças auto-imunes</b>	Lúpus eritematoso sistémico (LES), síndrome ac anti-fosfolípidos, artrite reumatóide, esclerodermia
<b>MAT associada a procedimentos e dispositivos cardiovasculares</b>	Cateterização cardíaca, angioplastia, bypass vascular, válvulas cardíacas protéticas
<b>MAT associada a infecção</b>	Tipicamente viral (citomegalovírus, adenovírus, herpes simplex vírus), bacteriana ( <i>meningococcus</i> , <i>pneumococcus</i> ) ou fúngica
<b>MAT associada a hipertensão grave</b>	Hipertensão arterial acelerada > 200/120 mmHg

**Tabela 2** – Microangiopatias trombóticas secundárias. Adaptada de George JN (2006)<sup>2</sup>, Fujimura *et al.*(2008)<sup>3</sup>, George JN (2010)<sup>4</sup>, George JN *et al.* (2014)<sup>5</sup>, Barbour T *et al.* (2012)<sup>8</sup>.

Este artigo de revisão irá focar um tipo específico de MAT primária, a PTT. O objectivo consistiu em rever, sumariamente, o conhecimento actual acerca desta síndrome trombótica, a qual tem sido alvo de marcado interesse e descobertas, nos últimos anos (gráfico 1).



**Gráfico 1** – Publicações disponíveis no *Pubmed*, quando se pesquisa por “thrombotic thrombocytopenic purpura”. Adaptado de Hovinga JA *et al.* (2012)<sup>20</sup>.

## **II. Critérios Diagnósticos**

Como referido previamente, a PTT foi descrita pela primeira vez, em 1924, pelo Dr. Eli Moschowitz que relatou o caso clínico de uma doente de 16 anos que morreu duas semanas após o início agudo de um quadro clínico caracterizado por febre, palidez, hemorragias petequiais, paralisia, hematúria e coma<sup>1,3</sup>. A autópsia demonstrou trombose hialina microvascular disseminada<sup>1,3</sup>. Em 1966, Amorosi e Ultmann reviram cerca de 271 doentes e estabeleceram uma pêntade diagnóstica de PTT que incluía anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, sinais e sintomas neurológicos, disfunção renal e febre<sup>10</sup>. Nos anos 70, demonstrou-se a eficácia da infusão e da troca de plasma no tratamento desta síndrome<sup>11,12</sup>. Desde então, devido à disponibilidade de um tratamento curativo, os critérios diagnósticos têm evoluído no sentido de se tornarem menos rigorosos e, conseqüentemente, mais inclusivos. Actualmente, para o diagnóstico presuntivo de PTT apenas são necessárias anemia hemolítica microangiopática e trombocitopenia, na ausência de etiologia alternativa para estes achados laboratoriais<sup>2,21</sup>.

## **III. Epidemiologia**

### **1. Incidência**

A incidência da PTT adquirida idiopática é de 6 casos por milhão por ano, no Reino Unido<sup>22</sup>, e varia entre 4 a 6 casos por milhão por ano, nos Estados Unidos da América<sup>23,24</sup>.

A incidência da PTT hereditária não é conhecida, no entanto, pensa-se que as mulheres com esta patologia têm maior probabilidade de ser diagnosticadas (devido à gravidez) que os homens<sup>3</sup>.

### **2. Factores protectores e factores de risco da PTT adquirida idiopática**



O sexo feminino, a raça negra, a faixa etária entre os 30 e os 50 anos e o grupo sanguíneo O têm sido documentados, em vários estudos<sup>4,24-33</sup>, como factores de risco independentes para a PTT adquirida idiopática associada a deficiência grave de ADAMTS13 (tabela 3).

Uma maior frequência relativa de obesidade (IMC > 30 kg/m<sup>2</sup>) também tem sido observada entre estes doentes<sup>29,34</sup>.

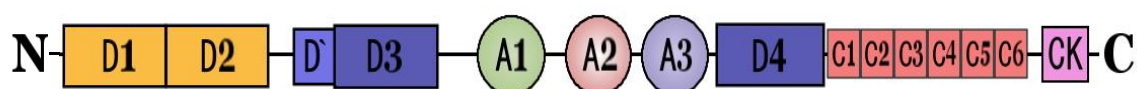
Por último, estudos de susceptibilidade genética têm demonstrado um maior risco de desenvolvimento da doença em indivíduos com alelos HLA (*Human Leukocyte Antigen*) classe II particulares, nomeadamente, HLA-DQB1\*02:02, HLA-DRB1\*11 e HLA-DRB3<sup>35-37</sup>. A reduzida ocorrência de HLA-DRB1\*04 e HLA-DRB4 em doentes com PTT adquirida idiopática sugere um possível efeito protector destes alelos HLA no desenvolvimento da doença<sup>35-37</sup>.

Referências	Nº de doentes	Idade média (anos)	Género (feminino)	Raça (afro-americanos)
George JN <sup>4</sup>	51	41 (9 a 71)	41 (80%)	19 (37%)
Sadler JE <i>et al.</i> <sup>25</sup>	22	39 (19 a 71)	18 (82%)	10 (45%)
Zheng XL <i>et al.</i> <sup>26</sup>	37	47 (16 a 79)	30 (82%)	16 (43%)
Scully M <i>et al.</i> <sup>27</sup>	40	42 (21 a 76)	26 (65%)	13 (33%)
Zhan H <i>et al.</i> <sup>28</sup>	72	41 (13 a 82)	53 (74%)	42 (58%)
Hovinga JA <i>et al.</i> <sup>29</sup>	60	41 (9 a 72)	49 (82%)	21 (35%)
Yang S <i>et al.</i> <sup>30</sup>	40	41 (16 a 67)	29 (73%)	14 (35%)
Liu C <i>et al.</i> <sup>31</sup>	25	41	18 (72%)	16 (64%)

**Tabela 3** – Factores de risco demográficos da PTT adquirida.

#### IV. Papel fisiológico da ADAMTS13 e do FvW

O FvW (figura 1) é uma glicoproteína plasmática multimérica cuja função é essencial para a normal hemostase primária<sup>3,38,39</sup>.



**Figura 1** – Organização dos domínios do FvW. Adaptado de Crawley JT *et al.* (2011)<sup>38</sup> e Crawley JT *et al.* (2013)<sup>39</sup>

A sua estrutura e a função dos seus diferentes constituintes encontram-se detalhadas na tabela 4.

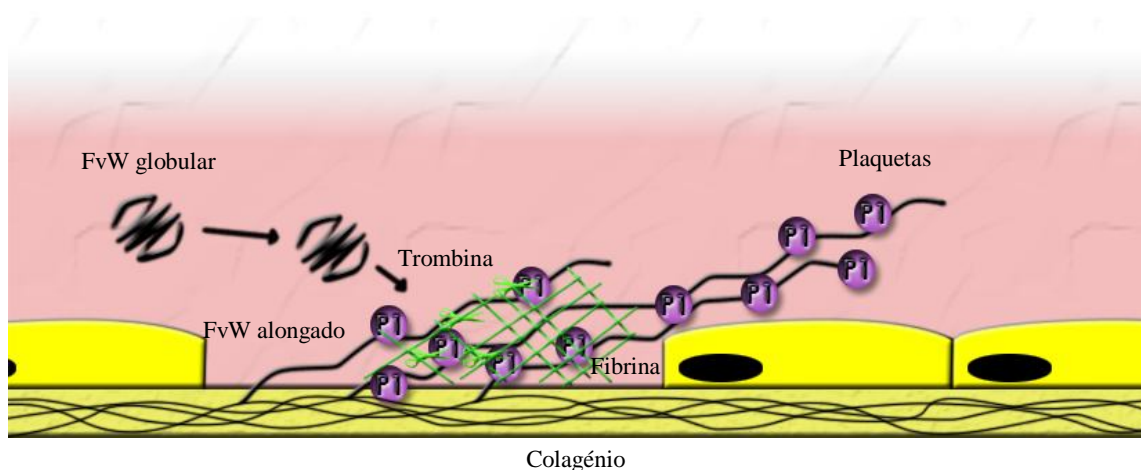
<b>Estrutura</b>	<b>Função</b>	<b>Referências</b>
<b>Pró-péptido (domínios D1 e D2)</b>	Cataliza o processo de multimerização dos dímeros de FvW, no aparelho de Golgi, ao actuar como uma dissulfeto isomerase que forma ligações dissulfeto entre as extremidades N-terminal dos dímeros. É removido por uma enzima furina, estando ausente no FvW multimérico maduro.	38
<b>Domínio D'-D3</b>	Inclui o local de ligação ao factor VIII, uma vez que, o FvW é a proteína de transporte deste factor da coagulação.	38, 39
<b>Domínio A1</b>	Contém o local de ligação à glicoproteína plaquetária Iba. Encontra-se oculto na forma globular do FvW, prevenindo a ligação plaquetária espontânea e não necessária.	38, 39
<b>Domínio A2</b>	Contém múltiplos exsítios de ligação à ADAMTS13, os quais contribuem para a especificidade do substrato. Contém ainda o local de clivagem por esta enzima e os locais de clivagem por outras enzimas como a elastase dos neutrófilos, a proteinase 3, a metaloprotease 9 e a catepsina G. Encontra-se oculto na forma globular do FvW	38, 39, 40, 41
<b>Domínio A3</b>	Contém o local de ligação ao colagénio. Encontra-se exposto na forma globular do FvW.	38, 39
<b>Domínio D4</b>	Permite, juntamente com o domínio CK, a ligação entre o FvW globular e os domínios TSP 5-8 e CUB da ADAMTS13, fazendo com que uma pequena porção da enzima circule complexada com a forma globular do substrato. Encontra-se exposto na forma globular do FvW.	38, 39, 42, 43
<b>Domínios C (C1-C6)</b>	O domínio C4 contém o local de ligação à glicoproteína plaquetária IIb/IIIa. O papel funcional dos restantes domínios C ainda não é conhecido.	38, 39
<b>Domínio CK</b>	<i>Vide Domínio D4.</i>	38, 39, 42, 43
<b>O- e N-glicosilações</b>	O FvW maduro é constituído por 12 N- e 10 O- cadeias laterais de glicanos. As N-glicosilações são essenciais para a secreção do FvW e, consequentemente, influenciam os níveis plasmáticos desta glicoproteína. A sua presença também condiciona a proteólise pela ADAMTS13. A ausência de N-glicosilações no resíduo Asn1574 do domínio A2 facilita o desdobramento deste domínio e, portanto, a sua proteólise. As O-glicosilações estão agrupadas de cada lado do domínio A1 e, provavelmente, conferem rigidez à estrutura enzimática.	38, 44, 45
<b>Ligações dissulfeto intermoleculares</b>	Estabelecem-se entre os resíduos cisteína dos domínios CK e permitem a dimerização covalente dos monómeros do FvW, no retículo endoplasmático.	38

**Tabela 4** – Estrutura e função dos diferentes constituintes do FvW.

A expressão do FvW é limitada às células megacariocíticas e às células vasculares endoteliais, nas quais é armazenado, respectivamente, nos grânulos  $\alpha$  e nos corpos de Weibel-Palade, num espectro de tamanhos multiméricos que varia de dímeros a multímeros de muito alto peso molecular<sup>4,39,46</sup>.

A sua libertação é feita quer para a matriz subendotelial, através do pólo basal das células endoteliais, quer para a circulação sanguínea, constitutivamente pelo pólo apical destas células ou após estimulação específica das mesmas e das plaquetas<sup>4,39</sup>.

Na circulação sanguínea, o FvW dobra-se numa conformação globular na qual os locais de ligação ao colagénio são expostos, permitindo o seu recrutamento para a matriz extracelular subendotelial nos locais de lesão vascular<sup>4,39,46</sup>. Devido às elevadas tensões de cisalhamento nestes locais, o FvW desenrola e adquire uma conformação alongada, a qual expõe os locais de ligação às glicoproteínas Ib $\alpha$ <sup>25</sup>, componentes dos receptores glicoproteicos Ib-IX-V, na superfície das plaquetas<sup>38,39</sup>. Consequentemente, ocorre adesão e agregação plaquetária que culminam com a formação de um trombo plaquetário hemostático<sup>38,39</sup>. O colagénio e a trombina presentes nestes locais de lesão vascular agem como potentes activadores das plaquetas, permitindo a sua adesão e agregação independente do FvW e a consolidação do trombo por fibrina (figura 2)<sup>39</sup>.

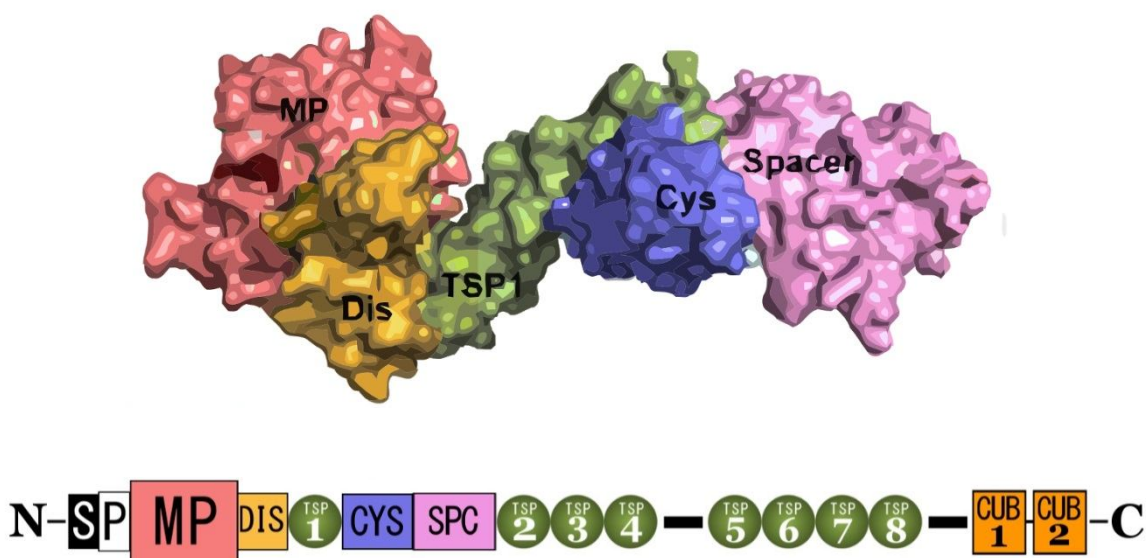


**Figura 2** – Papel fisiológico do FvW. Adaptado de Crawley JT *et al.* (2011)<sup>38</sup> e Crawley JT *et al.* (2013)<sup>39</sup>.

O FvW adere ao colagénio subendotelial e desenrola, sob acção das tensões de cisalhamento, expondo os locais de ligação às plaquetas. As plaquetas aderem e agregam ocorrendo a formação de um trombo plaquetário o qual é, posteriormente, consolidado por uma rede de fibrina.

A capacidade do FvW para cumprir esta função hemostática é altamente dependente do seu tamanho multimérico<sup>38</sup>. Os multímeros de maior peso molecular são os mais hemostaticamente competentes, não só porque contêm mais locais de ligação ao colagénio e às plaquetas mas também porque desenrolam mais facilmente em resposta às tensões de cisalhamento<sup>39</sup>. Paradoxalmente, são também os mais sensíveis ao processamento pela ADAMTS13, uma vez que o desdobramento do FvW expõe, simultaneamente, os locais de ligação à enzima e os locais de clivagem proteolítica pela mesma<sup>38,39,47</sup>. Esta última situação é crucial, dado que os níveis de tensão de cisalhamento necessários para induzir o desdobramento dos multímeros de muito alto peso molecular estão na gama dos encontrados fisiologicamente na microcirculação arteriolar e capilar normal<sup>7</sup>. As formas de menores dimensões que circulam após a clivagem não provocam a adesão e a agregação das plaquetas durante o fluxo sanguíneo normal<sup>7</sup>.

A ADAMTS13 (figura 3), o 13º membro da família ADAMTS (*a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin type 1 motives*), é uma desintegrina e metaloprotease plasmática<sup>38,39,41-43,48-55</sup>. A sua estrutura é formada por múltiplos domínios, os quais se encontram pormenorizados na tabela 5.



**Figura 3** – Organização dos domínios da ADAMTS13. Adaptado de Crawley JT *et al.* (2011)<sup>38</sup> e Crawley JT *et al.* (2013)<sup>39</sup>.

<b>Estrutura</b>	<b>Função</b>	<b>Referências</b>
<b>Domínio metaloprotease</b>	Contém o centro activo da enzima que cliva a ligação peptídica Tyr1605-Met1606 do FvW e os locais de ligação ao $Zn^{2+}$ e $Ca^{2+}$ . Inclui pontos de interacção específicos com o FvW os quais são importantes para o reconhecimento e especificidade da enzima. Os resíduos Leu198, Leu232 e Leu274 constituem o subsítio S3 que contacta com o subsítio P3, envolvendo o resíduo Leu1603, do FvW. Os subsítios S1 (Leu151 e Val195) e S1' (Asp252-Pro256) da ADAMTS13 encaixem com os subsítios P1 (Tyr1605) e P1' (Met1606) do FvW, respectivamente.	38, 39, 48, 49
<b>Domínio desintegrina</b>	Contém um exosítio, envolvendo os resíduos Arg349 e Leu350, que se liga a um exosítio no domínio A2 do FvW, envolvendo o resíduo Asp1614. Esta interacção, apesar de baixa afinidade, é crítica uma vez que contribui para o reconhecimento e proteólise do FvW, ao orientar a sua ligação peptídica de clivagem para o centro activo da ADAMTS13.	38, 39, 50
<b>Repetição trombospondina-1 (TSP 1)</b>	O papel funcional da TSP 1 que separa o domínio desintegrina do domínio rico em cisteína é pouco claro, mas reconhece-se a sua importância estrutural.	39
<b>Domínio rico em cisteína</b>	Contém um exosítio funcional que presumivelmente interage com os resíduos adjacentes ao exosítio ao qual se liga o domínio espaçador, no domínio A2 do FvW. É essencial para a função da enzima, provavelmente, ao suportar a conformação funcional do domínio espaçador.	38, 39, 41
<b>Domínio espaçador</b>	Contém um exosítio, envolvendo os resíduos Arg559-Arg669, que se liga a um exosítio críptico no domínio A2, envolvendo os resíduos Glu 1660-Arg1668, revelado após o desdobramento do FvW. Esta interacção aumenta a afinidade da ADAMTS13 para o FvW.	38, 39, 51, 52
<b>TSP adicionais (TSP 2-8)</b>	Os domínios TSP 2-8 participam na ligação da ADAMTS13 ao receptor de superfície celular CD36.	38
	Os domínios C-terminal da ADAMTS13 (TSP 5-8 e CUB 1-2) parecem ser importantes para a óptima actividade de clivagem da enzima, em condições de fluxo. Ao mediar, em parte, a ligação ao FvW globular (domínios D4-CK), os domínios C-terminal da ADAMTS13 permitem que uma pequena porção da enzima circule complexada com a forma globular do substrato. Na ausência de desdobramento do FvW, esta interacção não é produtiva em termos de proteólise, contudo, uma vez desdobrado, a ligação potencia a actividade de clivagem da enzima.	38, 39, 42, 43, 53
<b>Domínios CUB (CUB 1 e CUB 2)</b>	<i>Vide acima.</i> Mutações no domínio CUB-2 que ocorrem naturalmente em doentes com PTT hereditária, resultam numa redução significativa da secreção de ADAMTS13 e numa inversão da preferência apical em células polarizadas, particularmente em células endoteliais, o que sugere um papel adicional dos domínios CUB.	54

### O- e N-glicosilações

Contém 10 locais de N-glicosilação distribuídos pelos domínios metaloprotease, espaçador, TSP 4 e CUB. As N-glicosilações, produzidas no retículo endoplasmático, são essenciais para a secreção da enzima e, possivelmente, contribuem para a sua actividade ao promoverem um correcto enrolamento proteico e estabelecimento de ligações dissulfito, criando uma conformação óptima para a ADAMTS13 interagir com os multímeros do FvW. Contudo, após a secreção da enzima, as N-glicosilações não são essenciais para a interacção enzima-substrato. As O-glicosilações, produzidas no aparelho de Golgi, parecem aumentar a actividade proteolítica da ADAMTS13.

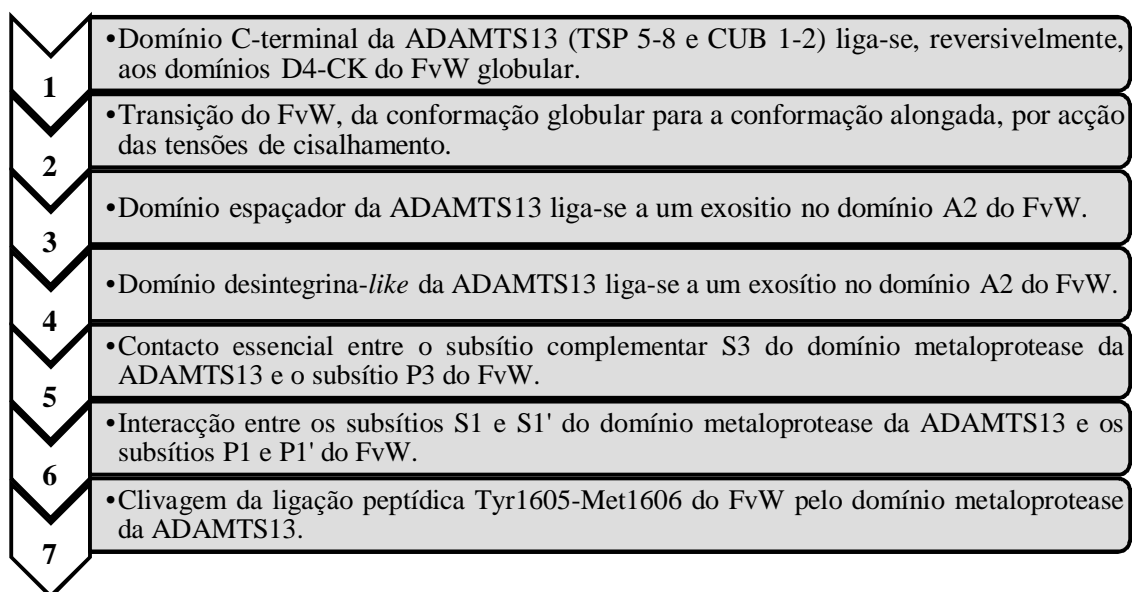
55

**Tabela 5** – Estrutura e função dos diferentes constituintes da enzima ADAMTS13.

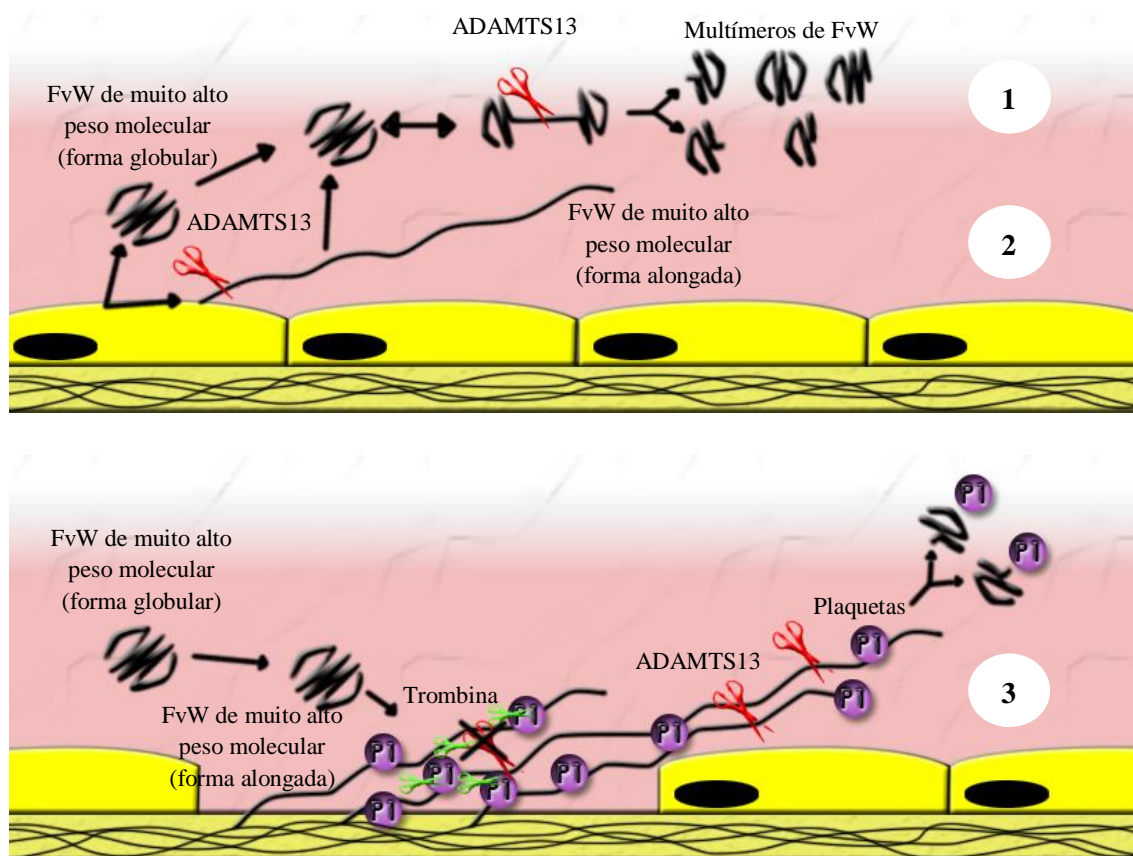
A produção da ADAMTS13 ocorre, principalmente, nas células estreladas do fígado<sup>56</sup> embora também se verifique, em níveis muito mais baixos, em outros tipos celulares como nos podócitos<sup>57</sup>, nas células endoteliais<sup>46,58</sup> e nas plaquetas<sup>59</sup>.

A sua principal função é a clivagem proteolítica do FvW em formas mais pequenas e menos activas, contribuindo para a existência de um equilíbrio entre os mecanismos pró- e anti-adesão plaquetária<sup>38,39,60</sup>.

Nas figuras 4 e 5 estão representados, respectivamente, o modelo de interacção multietápico entre o FvW e a ADAMTS13 e os três diferentes locais de proteólise, actualmente, reconhecidos.



**Figura 4** – Modelo de interacção multietápico entre o FvW e a ADAMTS13<sup>39,43</sup>.



**Figura 5** – Possíveis locais de proteólise do FvW pela ADAMTS13. Adaptado de Crawley JT *et al.* (2011)<sup>38</sup> e Crawley JT *et al.* (2013)<sup>39</sup>.

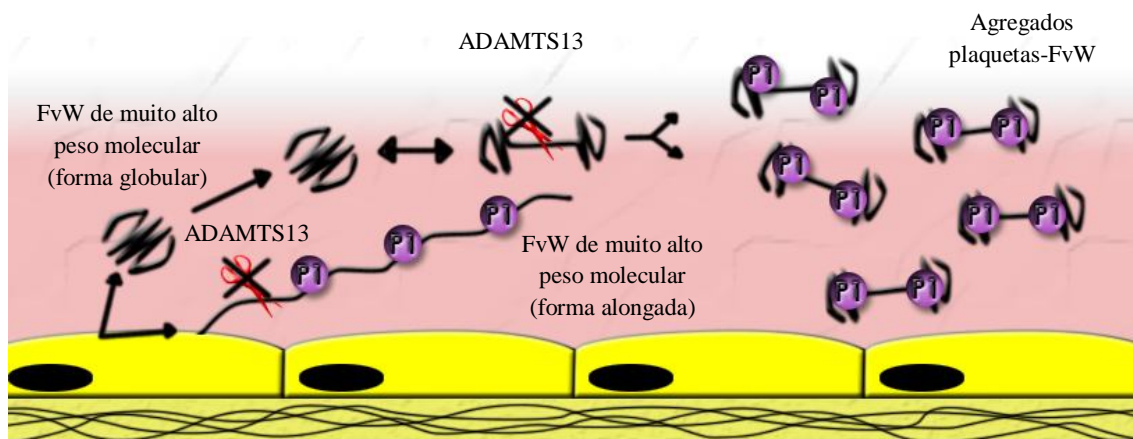
- 1) Uma parte do FvW de muito alto peso molecular é, directamente, libertada para a circulação. Por acção das tensões de cisalhamento, existe uma transição da conformação globular para a conformação alongada, a qual expõe os locais de ligação e clivagem pela ADAMTS13. Os multímeros de menores dimensões readquirem a conformação globular.
- 2) A outra parte do recém-libertado FvW de muito alto peso molecular é ancorada à superfície das células endoteliais através da P-selectina e da integrina  $\alpha_v\beta_3$ , desenrolando sob influência das tensões de cisalhamento. Uma vez na conformação alongada, o FvW pode ser clivado pela ADAMTS13 em multímeros de menores dimensões, os quais readquirem a conformação globular, ao serem libertados em circulação.
- 3) O tampão plaquetário estende-se além do local de lesão vascular, onde tem pouca ou nenhuma exposição ao colagénio e à trombina. Consequentemente, o agregado de plaquetas e FvW não é consolidado por fibrina, permitindo a clivagem pela ADAMTS13, a qual limita a formação do trombo ao local de lesão vascular.

## V. Papel fisiopatológico da ADAMTS13 e do FvW

A base do processo fisiopatológico da PTT é a deficiência grave da actividade da ADAMTS13, a qual é variavelmente definida como inferior a 5% ou 10% do



normal<sup>2,3,7,20,22,39</sup>. A ausência ou franca diminuição da enzima condiciona a acumulação de multímeros de FvW de muito alto peso molecular na circulação que, quando submetidos às tensões de cisalhamento na microvasculatura capilar e arteriolar normal, desenrolam levando a adesão e agregação plaquetárias e, conseqüentemente, à formação de trombos intravasculares na ausência de lesão endotelial (figura 6)<sup>2,3,7,20,22,39,61</sup>.



**Figura 6** – Deficiência grave da ADAMTS13. Adaptado de Crawley JT *et al.* (2011)<sup>38</sup> e Crawley JT *et al.* (2013)<sup>39</sup>.

A deficiência grave da ADAMTS13 condiciona acumulação dos multímeros de muito alto peso molecular e, conseqüente, trombose na microvasculatura arteriolar e capilar normal.

## VI. Causas da deficiência grave da ADAMTS13

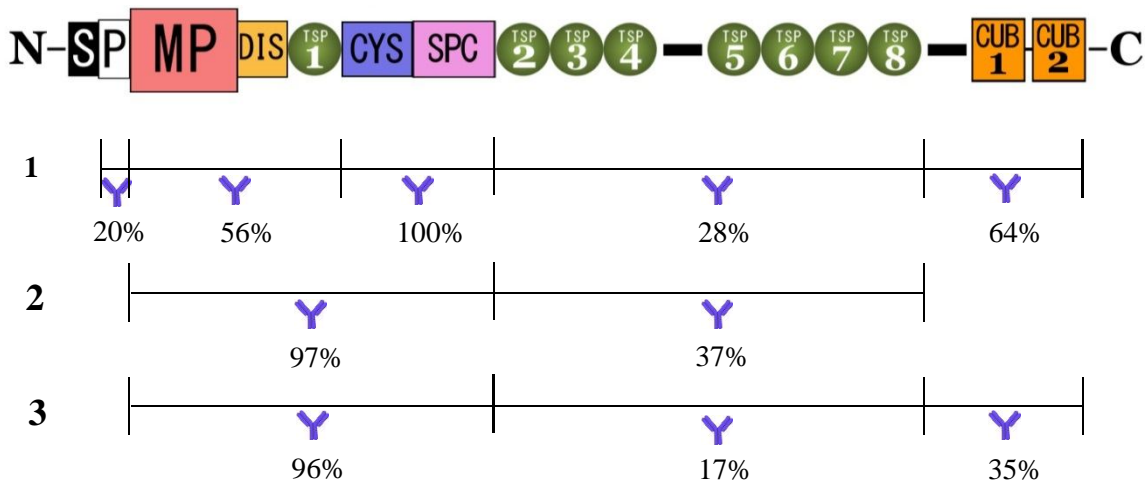
Actualmente, duas formas de deficiência grave da ADAMTS13 são reconhecidas: uma forma congénita e uma forma adquirida<sup>20,39,62</sup>.

A forma congénita da deficiência grave da ADAMTS13 caracteriza a PTT hereditária, anteriormente, conhecida por Síndrome de Upshaw-Schulman<sup>20,39,62</sup>. Resulta de mutações no gene codificador da ADAMTS13 localizado no cromossoma 9q34<sup>63</sup>, tendo já sido identificadas mais de 140 mutações diferentes<sup>20</sup>. Cerca de 50% ocorrem nos domínios metaloprotease, rico em cisteína e espaçador<sup>64</sup>. Ambos os alelos têm de estar afectados homozigótica ou heterozigoticamente, uma vez que, a transmissão é autossómica recessiva<sup>20,39,62</sup>. Apesar da penetrância ser superior a 90%<sup>8</sup>, a PTT hereditária é a forma menos comum da doença correspondendo entre 2 a 5% dos casos<sup>8,65</sup>. Pode apresentar-se em qualquer idade e ter uma variedade de fenótipos,



contudo, manifesta-se frequentemente na infância e tem um curso recidivante crónico, com episódios com cerca de 3 semanas de intervalo<sup>20,25,39,62</sup>.

A forma adquirida da deficiência grave da ADAMTS13 é caracterizada pelo desenvolvimento de auto-ac anti-ADAMTS13, que estão presentes em aproximadamente todos (94 a 97%) os doentes com PTT adquirida idiopática e deficiência grave da enzima<sup>20</sup>. A maioria ou mesmo todos os doentes<sup>66</sup> têm ac inibitórios, os quais inibem a actividade enzimática. 11,5 a 17% dos doentes têm simultaneamente ac não-inibitórios, os quais se pensa contribuírem para a deficiência de ADAMTS13 através do aumento da clearance da enzima da circulação sanguínea<sup>20,62,67,68</sup>. A maioria dos ac pertence à classe IgG, particularmente subclasse IgG<sub>4</sub> (90%), seguida por IgG<sub>1</sub> (52%), IgG<sub>2</sub> (50%) e IgG<sub>3</sub> (33%)<sup>69</sup>. No entanto, as classes IgM e/ou IgA, também têm sido relatadas num número limitado de doentes<sup>68-70</sup>. Estudos de mapeamento dos epítomos (figura 7) mostraram que o domínio espaçador constitui uma região antigénica comum, especificamente, os resíduos V657-G666 e T572-N579<sup>71</sup>. Os ac anti-ADAMTS13 reconhecendo um epítipo primário neste domínio estão presentes em 96 a 100% dos doentes com deficiência grave de ADAMTS3 imuno-mediada<sup>72-74</sup>. Adicionalmente, até 64% dos doentes têm, em simultâneo, ac que reconhecem epítomos noutras domínios da enzima<sup>72-74</sup>.



**Figura 7** – Mapa de epítomos. Adaptado de Hovinga JA *et al.* (2012)<sup>20</sup>, Crawley JT *et al.* (2011)<sup>38</sup> e Crawley JT *et al.* (2013)<sup>39</sup>.

1) Klaus *et al.* (2004)<sup>72</sup>; 2) Zheng *et al.* (2010)<sup>73</sup>; 3) Pos *et al.* (2011)<sup>74</sup>.

A PTT idiopática adquirida é a forma mais comum da doença, ocorrendo em crianças mais velhas e adultos<sup>64</sup>. É, geralmente, caracterizada por um único episódio agudo dado que, após tratamento bem-sucedido, apenas se repete a intervalos irregulares em 11 a 36% dos doentes<sup>64</sup>.

O mecanismo que leva à perda da tolerância imunológica e indução da auto-imunidade na PTT adquirida continua a ser pouco compreendido<sup>20</sup>. A exposição a antígenos (ag) exógenos com mimetismo molecular para ADAMTS13<sup>7,65</sup> e um papel das células T na resposta imune desregulada<sup>20</sup> são prováveis mas ainda não foram formalmente investigados.

## VII. Factores desencadeantes

Uma questão que permanece em debate é se a deficiência grave da ADAMTS13 é suficiente, isoladamente, para causar PTT ou se factores desencadeantes adicionais são necessários para precipitar um episódio clínico<sup>39</sup>. De acordo com a última hipótese, denominada *two-hit model*, a deficiência grave da ADAMTS13 predispõe à trombose microvascular mas a PTT clínica apenas sobrevém se um evento desencadeante ocorrer<sup>75</sup>. Vários exemplos apoiam esta hipótese. Primeiro, alguns doentes com a forma congénita da deficiência grave da enzima não expressam a doença ou fazem-no numa fase mais tardia da vida<sup>39,76</sup>. Segundo, alguns doentes com PTT adquirida idiopática entram em remissão clínica apesar da grave deficiência da ADAMTS13 e da persistência de auto-ac anti-ADAMTS13<sup>39,76</sup>. Terceiro, um recente modelo animal com primatas, mostrou que a injeção de ac anti-ADAMTS13 humanos é capaz de induzir MAT transitória mas não é suficiente para induzir a doença, sugerindo que um outro factor causal é necessário<sup>77</sup>.

A natureza destes factores desencadeantes é, actualmente, pouco compreendida porque a vasta maioria dos episódios agudos de PTT não apresenta um desencadeante clínico óbvio<sup>62,75</sup>. Eventos desencadeantes potenciais incluem a gravidez<sup>7,25</sup>, infecções<sup>7,78</sup>, cirurgias<sup>7,79</sup> e pancreatite<sup>80,81</sup>. Pensa-se que estes e outros stresses agudos possam desencadear um episódio inicial ou recorrente de PTT, possivelmente, devido à liberação de citocinas inflamatórias<sup>64,82,83</sup>, estrogénios<sup>25</sup> ou outros mediadores pró-

trombóticos. Como consequência, as células endoteliais adquirem um fenótipo pró-agregante com diminuição da libertação de factores anti-agregantes plaquetários (como a prostaglandina I<sub>2</sub>) e aumento da capacidade de secreção de múltimeros de FvW de muito alto peso molecular e da expressão de moléculas de adesão na superfície celular<sup>75,82</sup>. Outras consequências incluem a inibição da clivagem do FvW pela ADAMTS13<sup>82</sup> e a diminuição da síntese da enzima pelas células estreladas do fígado<sup>83</sup>. Conjuntamente, estas alterações fisiopatológicas modificam o equilíbrio entre os níveis de FvW e a actividade ADAMTS13, favorecendo a trombose microvascular, num doente susceptível.

## **VIII. Outros mecanismos patogénicos**

Pensa-se que outros mecanismos contribuam para o processo patogénico da PTT, particularmente, a activação do complemento.

Diferentes estudos demonstraram uma associação entre alguns casos de PTT aguda imuno-mediada e níveis plasmáticos aumentados de produtos de activação do complemento, com clara diminuição dos mesmos após início da TP<sup>75,84</sup>. Estes achados sugerem activação do complemento na fase aguda da doença a qual pode promover inflamação e lesão celular e, conseqüentemente, potenciar a trombose microvascular generalizada<sup>75,84,85</sup>. Especula-se que a activação do complemento seja desencadeada pela formação de imuno-complexos entre a ADAMTS13 e os ac anti-ADAMTS13<sup>75,85</sup>. Se estes dados se confirmarem, podem vir a tornar-se a base racional para a aplicação de tratamentos específicos destinados a controlar a activação do complemento na PTT adquirida<sup>75</sup>.

## **IX. Histopatologia**

Estudos de autópsia revelaram que a trombose intravascular da PTT é caracteristicamente hialina, sendo as plaquetas e o FvW os principais constituintes dos

trombos, e generalizada, envolvendo a microvasculatura de múltiplos órgãos<sup>7,21</sup>. Os sistemas de órgãos mais frequentemente afectados são o SNC, o coração, os rins, o tracto gastrointestinal, o pâncreas e o baço<sup>7,21,86</sup>. Esta distribuição das lesões é consistente com as características clínicas da PTT<sup>7,21,86</sup>, as quais serão descritas de seguida.

## **X. Diagnóstico**

A PTT tem um diagnóstico baseado na história clínica e análises laboratoriais padrão incluindo o esfregaço de sangue periférico<sup>86</sup>.

### **1. Apresentação clínica**

O episódio agudo da PTT é, geralmente, caracterizado por queixas não específicas prodrómicas como artralgias, mialgias e febre<sup>86,87</sup>.

Palidez, icterícia e fadiga também podem ocorrer, relacionando-se com a anemia<sup>86,87</sup>.

Hemorragias muco-cutâneas (como epistaxis, petéquias, gengivorragias, hematúria, hemoptises e hemorragias gastrointestinais) associam-se à trombocitopenia de consumo em cerca de 20% dos doentes<sup>87</sup>.

Outros sintomas/sinais estão ligados à isquemia induzida pela trombose sistémica<sup>86</sup> e incluem manifestações neurológicas centrais, frequentemente, flutuantes<sup>86</sup> e presentes na maioria dos doentes com PTT aguda. Variam de ligeiras/minor (como confusão e cefaleias) a graves/major (como convulsões, sinais neurológicos focais e coma, presente em 10% dos casos)<sup>28,86-89</sup>. Dor abdominal, náuseas, vômitos e diarreia são os sintomas gastrointestinais mais comuns, reflectindo a isquemia do tracto gastrointestinal<sup>28,87,89</sup>. Manifestações renais, resultantes da MAT renal, também ocorrem com frequência consistindo em insuficiência renal aguda (IRA) ou, mais raramente, falência renal aguda (FRA) com necessidade de diálise<sup>28,87-89</sup>. Por último, o processo trombogénico pode envolver a vasculatura cardíaca conduzindo a precordialgia, palpitações, hipotensão, dispneia ou mesmo morte súbita, que reflectem complicações

como enfarte do miocárdio, insuficiência cardíaca, arritmias e/ou choque cardiogénico, causas importantes e muitas vezes não reconhecidas de mortalidade e morbidade na PTT<sup>86,89-91</sup>.

A frequência dos diferentes sintomas tem sido relatada em vários estudos, com resultados relativamente sobreponíveis (tabela 6).

Sinais e sintomas	Zhan <i>et al.</i> <sup>28</sup>	Veyradier <i>et al.</i> <sup>87</sup>	George <i>et al.</i> <sup>88</sup>	Uptodate <sup>89</sup>
Sintomas gastrointestinais	30%	50%	-	-
Sintomas neurológicos	50%	75%	66%	66%
Graves	33%	50%	36%	37%
Ligeiros	17%	25%	30%	29%
Sintomas hemorrágicos	-	20%	-	-
Febre	13%	20%	21%	23%
Fraqueza	-	20%	-	-
Alterações renais				
Graves (FRA)	3%	5%	9%	8%
Ligeiras (IRA, hematúria, proteinúria)	50%	40%	41%	43%
Função renal normal	47%	55%	50%	49%
Pêntade completa	-	-	4%	5%
Alterações hematológicas				
Anemia	-	80%	100%	100%
Trombocitopenia	-	95%	100%	100%

**Tabela 6** – Frequência dos diferentes sintomas e sinais na PTT.

A duração média dos sintomas antes do diagnóstico é de cerca de 1 semana, com valores extremos variando de 1 dia a 3 semanas<sup>87</sup>.

## 2. Exames complementares de diagnóstico

### 2.1. Análises laboratoriais padrão

A trombocitopenia e a anemia hemolítica microangiopática são as alterações laboratoriais mais comuns na fase aguda da PTT (tabela 4), sendo cruciais para o estabelecimento do diagnóstico<sup>87</sup>. A sua gravidade também fornece informação acerca da extensão da agregação plaquetária na circulação microvascular<sup>87</sup>.

A trombocitopenia é resultado do consumo das plaquetas pelo processo trombótico, estando presente em quase todos os casos<sup>28,86-89</sup>. A contagem média destas células, na apresentação, encontra-se tipicamente entre 10 a 30 x 10<sup>9</sup>/L<sup>4,22,86</sup>.

O mecanismo etiológico da anemia é a hemólise mecânica na qual os eritrócitos são fragmentados à medida que o sangue flui através dos microvasos parcialmente ocluídos pelos agregados de plaquetas<sup>2,86</sup>. Os níveis de hemoglobina (Hb) médios na admissão estão frequentemente entre 8 a 10 g/dL<sup>86</sup> sendo acompanhados de uma alta contagem de reticulócitos, baixos níveis de haptoglobina, elevação da concentração de bilirrubina indirecta e da presença de esquizócitos no esfregaço de sangue periférico, parâmetros clássicos de hemólise<sup>28,86-89</sup>. Os testes de Coombs directo e indirecto são negativos, consistentes com a natureza mecânica da destruição eritrocitária<sup>28,86-89</sup>.

A combinação de hemólise e isquemia tecidual produz níveis elevados de lactato desidrogenase sérica (LDH)<sup>28,86-89</sup>.

As provas de coagulação padrão são geralmente normais<sup>28,86-89</sup>.

A análise sumária da urina é frequentemente próxima do normal, com proteinúria não nefrótica (habitualmente entre 1 a 2 g/dia), hematúria e algumas células ou cilindros celulares<sup>89</sup>. Somente nas situações mais graves, de insuficiência ou falência renal, ocorre elevação da creatinina e ureia séricas<sup>89</sup>.

Por último, os níveis de troponina T estão elevados em até 50% dos casos de PTT, reflectindo o comum envolvimento cardíaco<sup>91</sup>.

## **2.2. Outros exames complementares de diagnóstico**

Devem ainda ser realizados, no momento da apresentação, testes serológicos virais, *screening* de auto-ac e, quando apropriado, teste de gravidez e tomografia computadorizada (TC) tóraco-abdómino-pélvica para exclusão de eventuais causas secundárias de MAT<sup>86</sup>.

Adicionalmente, podem ser realizados electro- ou ecocardiograma para documentar ou monitorizar lesão cardíaca e um exame imagiológico crânio-encefálico, TC ou ressonância magnética (RM), para determinar o grau do envolvimento neurológico<sup>86</sup>.

## **2.3. Análises laboratoriais especializadas**

Apesar dos resultados dos referidos exames complementares serem suficientes para estabelecer o diagnóstico e iniciar a terapêutica adequada não são específicos da

PTT, podendo ocorrer em outras MAT<sup>30</sup>. Por este motivo, nos últimos anos, vários estudos têm procurado marcadores mais específicos da doença. Os resultados dos testes ADAMTS13 têm sido o foco destas investigações.

Estes testes incluem os ensaios da actividade e ag enzimáticos, os ensaios de detecção dos auto-ac (inibitórios e não-inibitórios) e a caracterização genética do gene codificador da ADAMTS13, devendo ser feitos com uma amostra de sangue colhida previamente ao início do tratamento<sup>92</sup>.

Uma actividade ADAMTS13 gravemente reduzida permite a confirmação do diagnóstico, apresentando uma sensibilidade e especificidade de 90% para a PTT<sup>26,28</sup>. Desta forma, existem autores<sup>93</sup> que defendem a sua inclusão como critério diagnóstico. No entanto, nem todos os doentes adequadamente diagnosticados com PTT têm deficiência grave da enzima<sup>87,94</sup>. Na realidade, o diagnóstico de PTT pode ser excluído nos doentes com actividade enzimática superior a 5% ou 10%, na ausência de resposta ao tratamento com plasma, dado que estes doentes têm, provavelmente, outra forma de MAT, na qual a actividade da ADAMTS13 é normal (40 a 140%) ou moderadamente reduzida (5/10% a 40%)<sup>89</sup>. Contudo, o diagnóstico não pode ser confirmado nem excluído nos doentes com actividade de ADAMTS13 plasmática maior que 5% ou 10% e resposta ao tratamento com plasma<sup>89</sup>, porque a plasmaterapia também pode ser eficiente em outras MAT, nomeadamente, na SHUa<sup>95</sup>.

Em comparação com os testes de actividade, os testes de ag ADAMTS13 não são capazes de classificar correctamente, na fase aguda da doença, todos os casos de PTT com deficiência grave da enzima e, por isso, têm menor utilidade no diagnóstico<sup>30</sup>.

Os auto-ac anti-ADAMTS13 são úteis para confirmar a etiologia auto-imune e distinguir entre as formas adquirida e hereditária da PTT<sup>90</sup>.

Relativamente aos testes de caracterização do gene codificador da ADAMTS13, estes são necessários para a confirmação do diagnóstico de PTT hereditária, juntamente com a deficiência grave da enzima e a ausência de auto-ac<sup>5</sup>.

Por último, os diferentes níveis de actividade e ag ADAMTS13 e os títulos de ac anti-ADAMTS13 não têm sido associados com a gravidade das apresentações clínica e laboratorial, no episódio agudo (tabela 7)<sup>26,34,94,96</sup>. No entanto, estes resultados podem fornecer informações importantes acerca dos *outcomes* a curto e a longo prazo (tabela 7), os quais serão descritos posteriormente.

	Deficiência grave da actividade ADAMTS13		Ac anti-ADAMTS13	
Zheng <i>et al.</i> <sup>26</sup>	<b>PTT aguda</b>	<b>Mortalidade:</b> associação com menor taxa de mortalidade (17% vs 65%).	<b>PTT aguda</b>	<b>Gravidade do episódio:</b> sem associação com apresentação clínica e laboratorial; associação com maior número de sessões de TP, atraso na recuperação da contagem de plaquetas e doença refractária. <b>Recaída:</b> associação com altos títulos.
Hovinga <i>et al.</i> <sup>29</sup>	<b>PTT aguda</b>	<b>Recaída:</b> associação com maior risco. <b>Mortalidade:</b> sem associação com menor taxa de mortalidade	<b>PTT aguda</b>	<b>Mortalidade:</b> associação com altos títulos.
	<b>Remissão</b>	<b>Recaída:</b> sem associação com maior risco.	<b>Remissão</b>	<b>Recaída:</b> sem associação com maior risco.
Vesely <i>et al.</i> <sup>34</sup>	<b>PTT aguda</b>	<b>Gravidade do episódio:</b> sem associação com apresentação clínica e laboratorial; tendência de associação linear entre grau de deficiência e taxa de resposta à TP. <b>Exacerbação:</b> associação com maior risco. <b>Recaída:</b> associação com maior risco.	<b>PTT aguda</b>	<b>Gravidade do episódio agudo:</b> sem associação com apresentação clínica e <i>outcomes</i> .
Ferrari <i>et al.</i> <sup>68</sup>	-	-	<b>PTT aguda</b>	<b>Mortalidade:</b> associação com altos títulos de IgA, sem associação com altos títulos (no geral). <b>Recaída:</b> altos títulos associados com actividade ADAMTS13 indetectável e com maior risco de recaída.
	<b>Remissão</b>	<b>Recaída:</b> associação com maior risco.	-	-
Ferrari <i>et al.</i> <sup>69</sup>	-	-	<b>PTT aguda</b>	<b>Recaída:</b> associação com altos títulos IgG4.
Böhm <i>et al.</i> <sup>94</sup>			<b>PTT aguda</b>	<b>Gravidade do episódio:</b> sem associação com apresentação clínica e laboratorial e resposta à TP.
Coppo <i>et al.</i> <sup>96</sup>	-	-	<b>PTT aguda</b>	<b>Gravidade do episódio:</b> associação com maior número de sessões de TP, atraso na recuperação da contagem de plaquetas e



				doença refractária. <b>Exacerbação:</b> associação com maior risco. <b>Recaída:</b> associação com maior risco <b>Mortalidade:</b> associação com altos títulos.
Jin <i>et al.</i> <sup>97</sup>	<b>Remissão</b>	<b>Recaída:</b> associação com maior risco.	<b>Remissão</b>	<b>Recaída:</b> sem associação com maior risco.
Peyvandi <i>et al.</i> <sup>98</sup>	<b>Remissão</b>	<b>Recaída:</b> associação com maior risco.	<b>Remissão</b>	<b>Recaída:</b> associação com maior risco.
Cataland <i>et al.</i> <sup>99</sup>	<b>PTT aguda</b>	<b>Exacerbação:</b> associação com maior risco.	<b>PTT aguda</b>	<b>Exacerbação:</b> títulos sem associação com maior risco.
Knovich <i>et al.</i> <sup>100</sup>	<b>Remissão</b>	<b>Recaída:</b> associação com maior risco.	-	-

**Tabela 7** – Valores prognóstico e preditivo dos testes ADAMTS13.

## **XI. Tratamento**

A PTT é uma doença aguda, *life-threatening*, que requer um tratamento imediato<sup>39</sup>.

### **1. Tratamento da PTT adquirida**

#### **1.1. Troca de plasma**

A TP é o tratamento padrão da PTT adquirida desde a publicação do ensaio clínico aleatorizado pelo Grupo de Aférese Canadano, em 1991, que mostrou a superioridade desta técnica face à infusão de plasma na forma adquirida da PTT<sup>15</sup>. A TP combina a plasmaferese com a infusão de plasma<sup>25</sup>. A primeira remove os complexos plaquetas-multímeros de FvW de muito alto peso molecular, os agentes que estimulam as células endoteliais a secretar estes múltímeros e os auto-ac anti-ADAMTS13<sup>25</sup>. A segunda fornece a enzima em falta<sup>25</sup>.

No geral, a troca diária de 1,5 vezes o volume de plasma previsto do doente deve ser iniciada tão cedo quanto possível após o diagnóstico<sup>15</sup>. O volume de troca pode ser reduzido de 1,5 vezes para 1 vez o volume de plasma quando os sintomas e os resultados dos testes laboratoriais começam a estabilizar, devendo manter-se este

regime diário pelo menos 2 dias após a contagem de plaquetas normalizar (ou seja, for superior a  $150 \times 10^9/L$ )<sup>39,86,101</sup>.

Na doença refractária, definida como a progressão de sintomas ou trombocitopenia persistente apesar da plasmaterapia, a intensificação da mesma através de um esquema diário duplo, com troca de 1 vez o volume plasmático em cada procedimento, pode trazer benefícios adicionais<sup>39,86</sup>.

## 1.2. Terapêutica imunossupressora

Na PTT adquirida, a imunossupressão é amplamente utilizada para combater o componente auto-imune da doença.

**Corticosteróides.** Os corticosteróides são utilizados em combinação com a TP no tratamento de primeira linha da PTT adquirida<sup>39,86</sup> sem, no entanto, existirem ensaios clínicos controlados e aleatorizados que comprovem a sua eficácia<sup>102,103</sup>. Altas doses mostraram melhorar o prognóstico a curto prazo comparativamente à TP isolada ou à TP associada com doses padrão<sup>102</sup>. Desta forma, as *guidelines* britânicas, recomendam metilprednisolona 1g/dia, endovenosa, durante 3 dias consecutivos ou prednisolona 1 mg/kg/dia, oral<sup>86</sup>.

**Rituximab.** Vários estudos, incluindo relatos de casos<sup>104,105,106,107</sup> e estudos prospectivos<sup>108,109</sup>, têm demonstrado a eficácia e segurança do rituximab, um ac monoclonal quimérico anti-CD20, quer como primeira linha no tratamento da PTT refractária e PTT recidivante crónica, quer como primeira linha na profilaxia da recidiva em doentes seleccionados com PTT recidivante grave e actividade ADAMTS13 inferior a 10%. Um estudo recente<sup>110</sup> defendeu, inclusivamente, uma extensão desta aplicação profiláctica a todos os doentes com história prévia de PTT e diminuição confirmada da actividade ADAMTS13 para níveis inferiores a 10%, durante a remissão. Nos últimos anos, tem também sido avaliada<sup>27,110</sup> a utilização do rituximab na terapêutica inicial da PTT aguda, concomitantemente com a TP e os corticosteróides, com um benefício da administração precoce do fármaco traduzido por um tempo de internamento mais curto e uma redução (não significativa) do número de sessões de TP até à remissão. No tratamento do episódio agudo, o rituximab é administrado na dose de  $375 \text{ mg/m}^2$ , por semana, durante 4 semanas<sup>29,105,109</sup>. A dose profiláctica do fármaco é de  $100 \text{ mg/m}^2$ <sup>95</sup>.

**Outros tratamentos imunossupressores.** Outros fármacos imunossupressores, preferencialmente a ciclosporina A mas também a vincristina e a ciclofosfamida, podem ser utilizados como terapêutica de segunda linha nos casos refractários e recidivantes da PTT imuno-mediada<sup>2,4,39,94,111,112</sup>.

### **1.3. Esplenectomia**

A esplenectomia, procedimento que permite a remoção do maior local de produção de ac, é, hoje em dia, raramente considerada na PTT imuno-mediada<sup>86</sup>. Contudo, uma série de casos retrospectiva, com 33 doentes esplenectomizados por doença refractária ou recidivante, apresentou uma sobrevida livre de recaída aos 10 anos de 70% sugerindo que a esplenectomia, quando realizada numa fase estável da doença e preferencialmente por técnica laparoscópica, é um procedimento com segurança aceitável para ser utilizado nos casos de doença recidivante e doença refractária ou dependente de terapêutica<sup>113</sup>.

### **1.4. Agentes anti-plaquetários**

A eficácia clínica dos agentes anti-plaquetários, como a aspirina e o dipiridamol, não está provada na PTT. Contudo, como são relativamente seguros, uma baixa dose de aspirina (75 mg, por dia, oral) pode ser dada durante a recuperação plaquetária (contagem de plaquetas superior a  $50 \times 10^9/L$ )<sup>86</sup>.

### **1.5. Terapêutica de suporte**

A transfusão de unidades de concentrado eritrocitário e a suplementação com ácido fólico são requeridas durante a hemólise activa<sup>86</sup>.

Apesar da escassez de evidência científica, é consensual que as transfusões de plaquetas devem ser evitadas na PTT aguda, devido ao risco de eventos trombóticos, excepto se existir hemorragia com risco de vida ou se um doente com trombocitopenia grave necessitar de ser submetido a cirurgia ou outro procedimento invasivo<sup>86,114</sup>.

A tromboprolifaxia com heparina de baixo peso molecular deve ser feita quando a contagem de plaquetas for superior a  $50 \times 10^9/L$ , uma vez que, o risco de tromboembolismo venoso está provavelmente aumentado devido à imobilização e à doença aguda<sup>86</sup>.

## 2. Tratamento da PTT hereditária

Os episódios agudos da PTT hereditária devem ser tratados com infusão de plasma fresco congelado<sup>20,25,39</sup>. As recaídas devem ser prevenidas, nos doentes com doença recidivante crónica, através da administração regular de infusão de plasma fresco congelado, a cada 2-4 semanas<sup>13,39,115</sup>. Actualmente, permanece por esclarecer se este esquema profiláctico deve ser estendido a todos os doentes com PTT hereditária com vista a prevenir sequelas a longo prazo, as quais serão descritas posteriormente<sup>20,116</sup>.

## 3. Novos tratamentos

Apesar da significativa redução da mortalidade com a plasmaterapia, este tratamento é especializado, moroso e pode estar associado a complicações (fatais e não fatais) adicionais (tabelas 8 e 9)<sup>39,117,118</sup>.

Desta forma, novas estratégias terapêuticas são desejáveis, estando, actualmente, várias em desenvolvimento (tabela 10)<sup>119-123</sup>.

Complicações major		Referências
Relacionadas com o cateter	Relacionadas com o plasma	
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Infecção sistémica</li> <li>▪ Trombose</li> <li>▪ Hemorragia pulmonar</li> <li>▪ Hemorragia retroperitoneal</li> <li>▪ Tamponamento pericárdico</li> <li>▪ Pneumotórax</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Hipotensão com necessidade de dopamina</li> <li>▪ Anafilaxia com paragem cardíaca</li> <li>▪ Doença do soro</li> <li>▪ Hipóxia</li> <li>▪ Vómitos</li> </ul>	39, 117, 118

**Tabela 8** – Exemplos de complicações major relacionadas com a TP.

Coorte	Total de doentes	Complicações major		Morte	
		Relacionadas com o cateter	Relacionadas com o plasma	Relacionadas com o cateter	Relacionadas com o plasma
1996-1999	71	19 (27%)	3 (4%)	2 (3%)	0 (0%)
1999-2002	78	16 (21%)	7 (9%)	1 (1%)	0 (0%)
2002-2005	57	12 (21%)	3 (5%)	2 (4%)	0 (0%)
2005-2008	43	6 (14%)	1 (2%)	2 (5%)	0 (0%)
2008-2011	45	7 (13%)	3 (6%)	0 (0%)	0 (0%)

**Tabela 9** – Frequência de complicações major e de mortes relacionadas com a TP. Adaptado de Som S *et al.* (2012)<sup>118</sup>.

Referências	Novos tratamentos	Mecanismo de acção	Aplicação
Cataland <i>et al.</i> <sup>119</sup>	ARC1779 (aptâmero anti-FvW)	Bloqueia o domínio A1 do FvW e consequentemente a sua interacção com o receptor plaquetário GPIb.	▪ PTT adquirida aguda (tratamento em adjuvância com a TP)
Feys <i>et al.</i> <sup>120</sup>	GBR600 (ac monoclonal anti-FvW)	Bloqueia o domínio A1 do FvW e consequentemente a sua interacção com o receptor plaquetário GPIb.	▪ PTT adquirida aguda (tratamento e prevenção)
Holz JB <sup>121</sup>	ALX-0081 (nanocorpo anti-FvW)	Bloqueia o domínio A1 do FvW e consequentemente a sua interacção com o receptor plaquetário GPIb.	▪ PTT adquirida aguda (tratamento em adjuvância com a TP)
Schiviz <i>et al.</i> <sup>122</sup>	ADAMTS13 recombinante	Restaura os níveis de ADAMTS13.	▪ PTT congénita ▪ PTT adquirida aguda (tratamento em adjuvância com a TP)
Jian <i>et al.</i> <sup>123</sup>	Variantes ADAMTS13 (modificação de resíduos do domínio espaçador)	Torna a ADAMTS13 resistente à ligação e inibição pelos auto-ac, aumentando simultaneamente a sua actividade proteolítica.	▪ PTT adquirida aguda (tratamento e prevenção)

**Tabela 10** – Novos tratamentos para a PTT.

## **XII. Outcomes**

### **1. Outcomes a curto prazo**

#### **1.1. Resposta à troca de plasma**

A resposta à TP é definida como a recuperação da contagem de plaquetas para níveis iguais ou superiores a  $150 \times 10^9/L$  no decurso do tratamento<sup>34</sup>.

##### **1.1.1. Factores preditivos de resposta à troca de plasma**

Os doentes com deficiência grave de ADAMTS13 tendem a apresentar uma maior taxa de resposta à TP comparativamente àqueles com actividade enzimática superior a 10% (89-100% vs 54-82%)<sup>26,34,124</sup>.

Títulos elevados de ac anti-ADAMTS13, na fase aguda, estão associados com um maior número de procedimentos necessários para alcançar resposta ao tratamento e

doença refractária (tabela 7)<sup>26,34,94,96</sup>. Deste modo, um título elevado de ac, no diagnóstico, constitui uma indicação formal para tratamento imunossupressor adjuvante no esquema terapêutico inicial<sup>62</sup>.

### **1.1.2. Monitorização da resposta à troca de plasma**

A contagem de plaquetas e os níveis de LDH têm sido rotineiramente utilizados para monitorizar a resposta clínica à terapêutica<sup>30</sup>. Embora forneçam uma medição sensível relativamente à extensão da MAT, não são específicos<sup>30</sup>.

O papel da actividade ADAMTS13 e anti-ADAMTS13 na monitorização da resposta e ajuste terapêutico ainda não foi determinado e, como referido anteriormente, existe uma pequena percentagem de doentes (aproximadamente 5%)<sup>95</sup> com resposta clínica à terapêutica que mantêm níveis indetectáveis da enzima e persistência dos ac<sup>39,76</sup>. Todavia, o doseamento do ag enzimático parece ser útil, sendo discutido em seguida (1.3. Exacerbações).

## **1.2. Mortalidade**

### **1.2.1. Taxa de mortalidade**

Antes da introdução do tratamento com plasma, no final da década de setenta, a taxa de mortalidade era de 90%<sup>29,87</sup>. Actualmente, diferentes séries relatam taxas de mortalidade que variam de 4 a 16%<sup>28,125,126</sup>, o que provavelmente reflecte um maior conhecimento da doença, diagnóstico precoce e início imediato da terapêutica adequada.

### **1.2.2. Factores preditivos de mortalidade**

Vários estudos têm avaliado o valor preditivo de mortalidade da deficiência grave de ADAMTS13 e/ou da presença de ac anti-ADAMTS13, no entanto, os resultados têm sido pouco concordantes (tabela 7)<sup>26,29,68,96</sup>. Relativamente ao ag ADAMTS13, Yang *et al* relataram que a sua deficiência grave e persistente, na fase aguda da doença, parece estar associada com um risco aumentado de mortalidade<sup>30</sup>.

Outros sinais clínicos e laboratoriais, mais acessíveis que os testes ADAMTS-13, têm sido igualmente avaliados. Por exemplo, Wyllie *et al* descreveram um índice preditivo de mortalidade a 6 meses baseado na idade, níveis de Hb e presença/ausência de febre no diagnóstico<sup>127</sup>. Benhamou *et al* definiram e validaram um score de risco de morte precoce em doentes com PTT que inclui envolvimento do SNC, idade e níveis de LDH na apresentação<sup>125</sup>. Da mesma forma, Chaturvedi *et al* identificaram uma

associação entre mortalidade aumentada e idade superior a 60 anos, defeitos neurológicos graves como obnubilação e níveis persistentemente elevados de LDH após duas ou mais sessões de TP<sup>126</sup>.

Mais recentemente, em 2014, Widemann *et al* demonstraram que níveis elevados, em circulação, de marcadores biológicos de activação, lesão e regeneração endotelial (como células endoteliais circulantes e células progenitoras circulantes) estão relacionados com maior risco de mortalidade, sugerindo o seu promissor papel como biomarcadores prognósticos e preditivos da doença<sup>128</sup>.

### **1.3. Exacerbação**

#### **1.3.1. Taxa de exacerbação**

A exacerbação de um episódio contínuo é definida como a recorrência da trombocitopenia e anemia hemolítica microangiopática com necessidade de reinício da TP diária nos primeiros 30 dias após a interrupção desse mesmo tratamento<sup>29,34,96,99</sup>. Verifica-se entre 22 a 45% dos doentes<sup>34,96,99,129</sup>, ocorrendo a maioria dos casos nas primeiras 2 semanas após a descontinuação da terapêutica.

#### **1.3.2. Factores preditivos de exacerbação**

A deficiência grave da actividade ADAMTS13 tem sido associada com maior risco de exacerbação (tabela 7)<sup>34,99</sup>. Da mesma forma, o ag ADAMTS13 também parece ser útil na predição desta recorrência. Yang *et al.*<sup>30</sup> sugeriram que níveis normais do ag, no momento da resposta clínica inicial, correspondem a uma resposta total e sustentada, com baixo risco de exacerbação, podendo o tratamento ser interrompido em segurança. Pelo contrário, a recuperação inadequada dos níveis de ag está associada a risco elevado de exacerbação e exige um acompanhamento atento do doente e, eventualmente, intervenção profiláctica como tratamento imunossupressor adjuvante.

Relativamente aos ac anti-ADAMTS13 (tabela 7), Coppo *et al.*<sup>96</sup> e Cataland *et al.*<sup>99</sup> não encontraram uma associação entre os seus níveis e o risco de exacerbação.

Por último, Catalad *et al.*<sup>99</sup> demonstraram um risco aumentado de exacerbação nos doentes de raça afro-americana.

## **2. Outcomes a longo prazo**

## **2.1. Recaída**

### **2.1.1. Taxa de recaída**

A recaída corresponde a um novo episódio de PTT, ou seja, recorrência da trombocitopenia e anemia hemolítica microangiopática após se alcançar a remissão completa. Este último conceito, por sua vez, descreve a ausência de tratamento com TP durante um período de 30 ou mais dias, no qual as anomalias clínicas e laboratoriais estão tipicamente resolvidas<sup>26,29,34</sup>.

A taxa de recaída descrita varia entre 13 a 40%<sup>129</sup>, com um risco estimado de 43% aos 7,5 anos<sup>29</sup>.

### **2.1.2. Factores preditivos de recaída**

De uma forma geral, os diferentes estudos demonstraram uma associação entre o risco de recaída e níveis indetectáveis de actividade ADAMTS13 e presença de ac anti-ADAMTS13 (tabela 7)<sup>26,29,34,68,69,96-98,100</sup>. Assim, os doentes podem ser monitorizados, durante a remissão, destas duas formas, habitualmente, com o doseamento da primeira<sup>95</sup>. Uma redução da actividade enzimática para níveis inferiores a 10% é preditiva de recaída e, consequentemente, uma marca para considerar tratamento profiláctico com TP e/ou rituximab<sup>100,110</sup>. Os doentes que alcançam remissão clínica sem normalização da actividade ADAMTS13 são mais difíceis de monitorizar quanto ao risco de recaída e é imperativo que procurem atendimento médico e realizem um hemograma urgente, caso apresentem qualquer sintomatologia<sup>95</sup>.

Jin *et al.*<sup>97</sup> também demonstraram que doentes mais jovens estão significativamente associados com maior risco de recaída, na presença de deficiência grave da actividade ADAMTS13.

### **2.1.3. Morbimortalidade na recaída**

Por último, a morbimortalidade da PTT, nos episódios recidivantes, é menor do que a observada no episódio inicial porque não existe atraso no estabelecimento do diagnóstico e início do tratamento<sup>94,130</sup>.

## **2.2. Sequelas**

Anomalias cognitivas minor, particularmente, problemas de concentração, de memória e fadiga são uma consequência possível, a longo prazo, da PTT<sup>131</sup>. Resultam,



provavelmente, de trombose microvascular cerebral disseminada<sup>131</sup> e, apesar de subtis, a sua presença parece ter um impacto importante na qualidade de vida dos doentes<sup>132</sup>. Adicionalmente, dados preliminares sugerem que a frequência de depressão maior está significativamente aumentada após a recuperação do episódio agudo<sup>88</sup>.

A frequência de hipertensão arterial requerendo tratamento também parece estar elevada, de forma significativa, entre os doentes que apresentaram PTT aguda. Contudo, ainda não foi possível determinar se esta anomalia está relacionada com disfunção orgânica residual, nomeadamente renal, ou se é apenas uma consequência da frequência aumentada de obesidade entre estes doentes<sup>88</sup>.

As anomalias cognitivas minor e a hipertensão arterial podem ainda ser o reflexo de um processo de aterosclerose acelerado. Um estudo recentemente publicado demonstrou que a enzima anti-trombótica ADAMTS13 previne a inflamação vascular excessiva e a formação da placa durante o processo de aterosclerose, revelando uma nova função da ADAMTS13 em adição ao seu conhecido papel na prevenção da PTT<sup>116</sup>. Estes achados poderão vir a revelar-se de particular importância nos doentes com PTT hereditária e nos doentes com PTT adquirida com níveis de actividade ADAMTS13 persistentemente baixos, os quais, eventualmente, beneficiarão da substituição regular da ADAMTS13.

### **2.3.Doenças auto-imunes**

Por último, os doentes com deficiência grave de ADAMTS13 imuno-mediada apresentam risco aumentado de desenvolver outras doenças auto-imunes como LES<sup>4,88</sup>.

### **XIII. Conclusão**

A década passada testemunhou avanços emocionantes no conhecimento da PTT. No entanto, muitas perguntas a respeito do seu diagnóstico, patogénese, tratamento e *outcomes* continuam por ser respondidas e clarificadas.

1. A incidência da PTT hereditária precisa de ser determinada<sup>62</sup>. Um registo destes doentes será certamente útil para sensibilizar os médicos e melhorar a saúde dos doentes afectados<sup>62</sup>.

2. Os testes ADAMTS13 devem ser aperfeiçoados de forma a se tornarem mais sensíveis, específicos, rápidos e amplamente disponíveis. O objectivo final deste aperfeiçoamento será a aplicação confiável dos testes no diagnóstico, decisão terapêutica a curto e longo-prazo, prognóstico e monitorização dos doentes no episódio agudo e na remissão.

3. De forma semelhante aos níveis de factor VIII na hemofilia A, é essencial determinar se existe benefício numa maior discriminação dos níveis de actividade da ADAMTS13, uma vez que, diferentes níveis podem eventualmente associar-se a comportamentos biológicos distintos<sup>93</sup>.

4. A natureza dos modificadores do fenótipo clínico e dos factores desencadeantes dos episódios agudos também deve ser aprofundada.

5. Relativamente à patogénese, são indispensáveis mais estudos com vista à caracterização das respostas imunológicas das células T em doentes com PTT adquirida. Esta caracterização contribuirá, provavelmente, para aumentar o nosso conhecimento acerca dos eventos moleculares que desencadeiam a formação de anticorpos anti-ADAMTS13 nos indivíduos aparentemente saudáveis<sup>67</sup>.

6. O tratamento da PTT precisa de se tornar mais efectivo, mais acessível e mais seguro, uma vez que, as taxas de sobrevivência da doença não se alteraram desde a introdução da TP<sup>4</sup>.

7. Ensaaios clínicos controlados e aleatorizados são necessários para definir e validar a utilização das modalidades terapêuticas já existentes bem como daquelas em desenvolvimento, nas diferentes formas da doença (aguda, refractária, recidivante ou em remissão com risco de recorrência). Estes ensaios exigem a colaboração internacional porque, devido à raridade da doença, os melhores e maiores estudos publicados até agora apresentam um tamanho de amostra insuficiente<sup>65</sup>.

8. O conhecimento detalhado sobre a patogenicidade das diferentes classes de imunoglobulinas poderá ser útil no desenvolvimento de imunoafereze e outras imunoterapias classe e subclasse específicas, as quais são, potencialmente, capazes de redireccionar a produção de imunoglobulinas para classes e subclasses menos patogénicas e de bloquear a activação do complemento e das células inflamatórias<sup>129</sup>.

9. O curso clínico da PTT, quer hereditária quer adquirida, deve ser acompanhado com o propósito principal de avaliar e clarificar quais as sequelas a longo prazo e qual a intervenção terapêutica mais adequada para as evitar.

10. Por último, se o papel da ADAMTS13 no controlo da aterosclerose precoce for confirmado, o uso clínico dos testes ADAMTS13 poderá vir a estender-se além da avaliação dos doentes com PTT imuno-mediada, particularmente, aos doentes com doença cardiovascular.

Concluindo, a PTT e as outras formas de MAT atraíram e continuam a atrair inúmeros investigadores. Muitas controvérsias, dúvidas e falhas de conhecimento permanecem e, portanto, os debates e os estudos mantêm o combustível para seguir em frente. Espera-se que a contínua investigação acerca das MAT venha a beneficiar os doentes afectados que ainda apresentam um alto risco de morte prematura e, algumas vezes, evitável.

## XIV. Bibliografia

1. Moake JL. Thrombotic microangiopathies. *New England Journal of Medicine* 2002; 347: 589-600.
2. George JN. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *New England Journal of Medicine* 2006; 354: 1927-1935.
3. Fujimura Y, Matsumoto M, Yagi H. Thrombotic microangiopathy. Recent advances in thrombosis and hemostasis 2008 (ed by Tanaka K, Davie EW). *Springer-Verlag* 2008: 625-639.
4. George JN. How I treat patients with thrombotic thrombocytopenic purpura: 2010. *Blood* 2010; 116(2): 4060-4069.
5. George JN, Nester CM. Syndromes of thrombotic microangiopathy. *New England Journal of Medicine* 2014; 371: 654-666.
6. Benz K, Amann K. Thrombotic microangiopathy: new insights. *Current Opinion Nephrology and Hypertension* 2010; 19(3): 242-247.
7. Tsai H. Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. *International Journal Hematology* 2010; 91(1): 1-19.
8. Barbour T, Johnson S, Cohn S, Hughes P. Thrombotic microangiopathy and associated renal disorders. *Nephrology Dialysis Transplantation* 2012; 27(7): 2673-2685.
9. Schulman I, Pierce M, Lukens A, Currimbhoy Z. Studies on thrombopoiesis. I: a factor in normal human plasma required for platelet production; chronic thrombocytopenia due to its deficiency. *Blood* 1960; 16: 943-957.
10. Amorosi EL, Ultmann JE. Thrombotic thrombocytopenic purpura: report of 16 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1966; 45: 139-59.
11. Collier BS. Historical perspective and future directions in platelet research. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2011; 9 (Suppl. 1): 374-395.
12. Bukowski RM, King JW, Hewlett JS: Plasmapheresis in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 1977; 50: 413-417.
13. Fujimura Y, Matsumoto M, Isonishi A, et al. Natural history of Upshaw-Schulman syndrome based on ADAMTS13 gene analysis in Japan. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2011; 9(Suppl 1): 283- 301.
14. Moake JL, Rudy CK, Troll JH, Weinstein MJ, Colannino NM, Azocar J, Seder RH, Hong SL, Deykin D. Unusually large plasma factor VIII: von Willebrand

factor multimers in chronic relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *New England Journal of Medicine* 1982; 307(23): 1432–1435.

15. Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, et al. Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *New England Journal of Medicine* 1991; 325(6): 393-397.

16. Furlan M, Robles R, Lämmle B. Partial purification and characterization of a protease from human plasma cleaving von Willebrand factor to fragments produced by in vivo proteolysis. *Blood* 1996; 87(10): 4223-4234.

17. Tsai HM. Physiologic cleavage of von Willebrand factor by a plasma protease is dependent on its conformation and requires calcium ion. *Blood* 1996; 87(10): 4235-4244.

18. Tsai HM, Lian EC. Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *New England Journal of Medicine* 1998; 339(22): 1585-1594.

19. Fujikawa K, Suzuki H, McMullen B, Chung D. Purification of human von Willebrand factor-cleaving protease and its identification as a new member of the metalloproteinase family. *Blood* 2001; 98(6): 1662-1666.

20. Hovinga JA, Lämmle B. Role of ADAMTS13 in the pathogenesis, diagnosis, and treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematology, American Society of Hematology Education Program* 2012: 610-616.

21. Sadler JE. Thrombotic thrombocytopenic purpura: a moving target. *Hematology, American Society of Hematology Education Program* 2006: 415-420.

22. Scully M, Yarranton H, Liesner R, Cavenagh J, Hunt B, Benjamin S, Bevan D, Mackie I, Machin S. Regional UK TTP registry: correlation with laboratory ADAMTS 13 analysis and clinical features. *British Journal of Haematology* 2008; 142(5): 819–826.

23. Miller DP, Kaye JA, Shea K, Ziyadeh N, Cali C, Black C, Walker AM. Incidence of thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome. *Epidemiology* 2004; 15(2): 208–215.

24. Terrell DR, Williams LA, Vesely SK, Lämmle B, Hovinga JAK, George JN. The incidence of thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: all patients, idiopathic patients, and patients with severe ADAMTS-13 deficiency. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2005; 3(7): 1432–1436.

25. Sadler JE, Moake JL, Miyata T, George JN. Recent advances in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematology*, American Society of Hematology Education Program 2004: 407-423.
26. Zheng XL, Kaufman RM, Goodnough LT, Sadler JE. Effect of plasma exchange on plasma ADAMTS13 metalloprotease activity, inhibitor level, and clinical outcome in patients with idiopathic and nonidiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2004; 103(11): 4043-4049.
27. Scully M, McDonald V, Cavenagh J, Hunt BJ, Longair I, Cohen H, Machin SJ. A phase 2 study of the safety and efficacy of rituximab with plasma exchange in acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2010; 118(7): 1746:1753.
28. Zhan H; Streiff MB, King KE; Segal JB. Thrombotic thrombocytopenic purpura at the Johns Hopkins Hospital from 1992 to 2008: clinical outcomes and risk factors for relapse. *Transfusion* 2010; 50(4): 865-874.
29. Hovinga JA, Vesely SK, Terrel DR, Lämmle B, George JN. Survival and relapse in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2010; 115(8): 1500-1511.
30. Yang S; Jin M; Lin S; Cataland S; Wu H. ADAMTS13 activity and antigen during therapy and follow-up of patients with idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: correlation with clinical outcome. *Haematologica*, European Journal of Haematology 2011; 96(10): 1521-1527.
31. Liu C, Kallogjeri D, Dynis M, Grossman B. Platelet recovery rate during plasma exchange predicts early and late responses in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion* 2013; 53(5): 1096-1107.
32. Terrell DR, Vesely SK, Kremer Hovinga JA, Lämmle B, George JN. Different disparities of gender and race among the thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolyticuremic syndromes. *American Journal of Hematology* 2010; 85(11): 844-847.
33. Terrel DR, Motto DG, Kremer-Hovinga JA, Lämmle B, George JN, Vesely SK. Blood group O and black race are independent risk factors for thrombotic thrombocytopenic purpura associated with severe ADAMTS13 deficiency. *Transfusion* 2011; 51(10): 2237-2243.
34. Vesely SK, George JN, Lammle B, et al. ADAMTS13 activity in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: relation to presenting features

and clinical outcomes in a prospective cohort of 142 patients. *Blood* 2003; 102(1): 60-68.

35. John ML, Hitzler W, Scharrer I. The role of human leukocyte antigens as predisposing and/or protective factors in patients with idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Annals of Hematology* 2012; 91(4): 507-510.

36. Scully M, Brown J, Patel R, McDonald V, Brown CJ, Machin S. Human leukocyte antigen association in idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: evidence for an immunogenetic link. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2010; 8(2): 257-262.

37. Coppo P, Busson M, Veyradier A, Wynckel A, Poullin P, Azoulay E, Galicier L, Loiseau P, for the French Reference Centre for Thrombotic Microangiopathies. HLA-DRB1\*11: a strong risk factor for acquired severe ADAMTS13 deficiency-related idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura in Caucasians. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2010; 8(4): 856-859.

38. Crawley JT, Groot R, Xiang Y, Luken BM, Lane DA. Unraveling the scissile bond: how ADAMTS13 recognizes and cleaves von Willebrand factor. *Blood* 2011; 118(12): 3212-3221.

39. Crawley JT, Scully MA. Thrombotic thrombocytopenic purpura: basic pathophysiology and therapeutic strategies. *Hematology*, American Society of Hematology Education Program 2013: 292-299.

40. Raife TJ, Cao W, Atkinson B, Bedell B, Montgomery RR, Lentz ST, Johnson GF, Zheng XL. Leukocyte proteases cleave von Willebrand factor at or near the ADAMTS13 cleavage site. *Blood* 2009; 114(8): 1666-1674.

41. Gao W, Anderson PJ, Sadler JE. Extensive contacts between ADAMTS13 exosites and von Willebrand factor domain A2 contribute to substrate specificity. *Blood* 2008; 112(5): 1713-1719.

42. Zanardelli S, Chion AC, Groot E, et al. A novel binding site for ADAMTS13 constitutively exposed on the surface of globular VWF. *Blood* 2009; 114(13): 2819-2828.

43. Feys HB, Anderson PJ, Vanhoorelbeke K, Majerus EM, Sadler JE. Multi-step binding of ADAMTS-13 to von Willebrand factor. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2009; 7(12): 2088-2095.

44. McKinnon TA, Chion AC, Millington AJ, Lane DA, Laffan MA. N-linked glycosylation of VWF modulates its interaction with ADAMTS13. *Blood* 2008; 111(6): 3042-3049.
45. Schulte am Esch J 2nd, Robson SC, Knoefel WT, Eisenberger CF, Peiper M, Rogiers X. Impact of O-linked glycosylation of the VWF-A1-domain flanking regions on platelet interaction. *British Journal of Haematology* 2005; 128(1): 82-90.
46. Turner NA, Nolasco L, Ruggeri ZM, Moake JL. Endothelial cell ADAMTS13 and VWF: production, release, and VWF string cleavage. *Blood* 2009; 114(24): 5012-5111.
47. Dong J-F. Cleavage of ultra-large von Willebrand factor by ADAMTS-13 under flow conditions. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2005; 3(8): 1710–1716.
48. Xiang Y, de Groot R, Crawley JT, Lane DA. Mechanism of von Willebrand factor scissile bond cleavage by a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13 (ADAMTS13). *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A* 2011; 108(28): 11602-11607.
49. de Groot R, Lane DA, Crawley JT. The ADAMTS13 metalloprotease domain: roles of subsites in enzyme activity and specificity. *Blood* 2010; 116(16): 3064-3072.
50. de Groot R, Bardhan A, Ramroop N, Lane DA, Crawley JT. Essential role of the disintegrin-like domain in ADAMTS13 function. *Blood*. 2009; 113(22): 5609-5616.
51. Pos W, Crawley JT, Fijnheer R, Voorberg J, Lane DA, Luken BM. An autoantibody epitope comprising residues R660, Y661, and Y665 in the ADAMTS13 spacer domain identifies a binding site for the A2 domain of VWF. *Blood* 2010; 115(8): 1640-1649.
52. Jin SY, Skipwith CG, Zheng XL. Amino acid residues Arg(659), Arg(660), and Tyr(661) in the spacer domain of ADAMTS13 are critical for cleavage of von Willebrand factor. *Blood* 2010; 115(11): 2300-2310.
53. Banno F, Chauhan AK, Kokame K, et al. The distal carboxyl-terminal domains of ADAMTS13 are required for regulation of in vivo thrombus formation. *Blood* 2009; 113(21): 5323-5329.
54. Shang D, Zheng XW, Nilya M, Zheng XL. Apical sorting of ADAMTS13 in vascular endothelial cells and Madin-Darby canine kidney cells depends on the CUB domains and their association with lipid rafts. *Blood* 2006; 108(7): 2207-2215.



55. Zhou W, Tsai HM. N-glycans of ADAMTS13 modulate its secretion and von Willebrand factor cleaving activity. *Blood* 2009; 113(4): 929-935.
56. Uemura M, Tatsumi K, Matsumoto M, et al. Localization of ADAMTS13 to the stellate cells of human liver. *Blood* 2005; 106(3): 922-924.
57. Manea M, Kristoffersson A, Schneppenheim R, et al. Podocytes express ADAMTS13 in normal renal cortex and in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *British Journal of Haematology* 2007; 138(5): 651-662.
58. Turner NA, Nolasco L, Tao Z, Dong JF, Moake J. Human endothelial cells synthesize and release ADAMTS-13. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006; 4(6): 1396-404.
59. Liu L, Choi H, Bernardo A, et al. Platelet-derived VWF-cleaving metalloprotease ADAMTS-13. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2005; 3(11): 2536-2544.
60. Furlan M. Proteolytic cleavage of von Willebrand factor by ADAMTS-13 prevents uninvited clumping of blood platelets. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2004; 2(9): 1505-1509.
61. Moake JL. Defective processing of unusually large von Willebrand factor multimers and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2004; 2(9): 1515-1521.
62. Lämmle B, Kremer Hovinga JA, Alberio L. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2005; 3(8): 1663-1675.
63. Levy GA, Nichols WC, Lian EC, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature* 2001; 413(6855): 488-494.
64. Coppo P, Veyradier A. Thrombotic microangiopathies: towards a pathophysiology-based classification. *Cardiovascular & Haematological Disorders-Drug Targets* 2009; 9(1): 36-50.
65. Mannucci PM, Peyvand F. TTP and ADAMTS13: When is testing appropriate? *Hematology, American Society of Hematology Education Program* 2007: 121-126.
66. Tsai HM. Current concepts in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Annual Review of Medicine* 2006; 57: 419-436.

67. Pos W, Luken BM, Sorvillo N, Kremer Hovinga JA, Voorberg J. Humoral immune response to ADAMTS13 in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2011; 9: 1285–1291.
68. Ferrari S, Scheifflinger F, Rieger M, Mudde G, Wolf M, Coppo P, Girma JP, Azoulay E, Brun-Buisson C, Fakhouri F, Mira JP, Oksenhendler E, Poullin P, Rondeau E, Schleinitz N, Schlemmer B, Teboul JL, Vanhille P, Vernant JP, Meyer D, et al. Prognostic value of anti-ADAMTS 13 antibody features (Ig isotype, titer, and inhibitory effect) in a cohort of 35 adult French patients undergoing a first episode of thrombotic microangiopathy with undetectable ADAMTS 13 activity. *Blood* 2007; 109(7): 2815–2822.
69. Ferrari S, Mudde GC, Rieger M, Veyradier A, Kremer Hovinga JA, Scheifflinger F. IgG subclass distribution of anti-ADAMTS13 antibodies in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2009; 7(10): 1703–1710.
70. Rieger M, Mannucci PM, Hovinga JA, Herzog A, Gerstenbaues G, Konetschny C, Zimmermann K, Scharrier I, Peyvandi F, Galbusera M, Remuzzi G, Böhm M, Plaimauer B, Lämmle B, Scheifflinger F. ADAMTS13 autoantibodies in patients with thrombotic microangiopathies and other immunomediated diseases. *Blood* 2005; 106(4): 1262-1267.
71. Luken BM, Turenhout EA, Kaijen PH, et al. Amino acid regions 572–579 and 657–666 of the spacer domain of ADAMTS13 provide a common antigenic core required for binding of antibodies in patients with acquired TTP. *Thrombosis and Haemostasis* 2006; 96(3): 295–301.
72. Klaus C, Plaimauer B, Studt JD, Domer F, Lämmle B, Mannucci PM, Scheifflinger F. Epitope mapping of ADAMTS13 autoantibodies in acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2004; 103(12): 4514-4519.
73. Zheng XL, Wu HM, Shang D, Falls E, Skipwith CG, Cataland SR, Bennett CL, Kwaan HC. Multiple domains of ADAMTS13 are targeted by autoantibodies against ADAMTS13 in patients with acquired idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica, European Journal of Haematology* 2010; 95 (9): 1555–62.
74. Pos W, Sorvillo N, Fijnheer R, Feys HB, Kaijen PH, Vidarsson G, Voorberg J. Residues Arg568 and Phe592 contribute to an antigenic surface for anti-ADAMTS13 antibodies in the spacer domain. *Haematologia, European Journal of Haematology* 2011; 96(1): 1670-1677.

75. Réti M, Farkas P, Csuka D, Rázsó K, Schlammadinger Á, Udvardy ML, Madách K, Domján G, Bereczki C, Reusz GS, Szabó AJ, Prohászka Z. Complement activation in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2012; 10(5): 791–798.
76. Banno F, Kokame K, Okuda T, Honda S, Miyata S, Kayo H, Tomiyama Y, Miyata T. Complete deficiency in ADAMTS13 is prothrombotic, but it alone is not sufficient to cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2006, 107(8): 3161-3166.
77. Feys HB, Roodt J, Vandeputte N, Pareyn I, Lamprecht S, van Rensburg WJ, Anderson PJ, Budde U, Louw VN, Badenhorst PN, Deckmyn H, Vanhoorelbeke K. Thrombotic thrombocytopenic purpura directly linked with ADAMTS13 inhibition in the baboon (*Papio ursinus*). *Blood* 2010; 116(12): 2005-2010.
78. Cserti CM, Landaw S, Uhi L. Do infections provoke exacerbations and relapses of thrombotic thrombocytopenic purpura? *Journal of Clinical Apheresis* 2007; 22(1): 21-25.
79. Mannucci PM, Parolari A, Canciani MT, et al. Opposite changes of ADAMTS-13 and von Willebrand factor after cardiac surgery. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2005; 3(2): 397-399.
80. Swisher KK, Doan JT, Vesely SK, et al. Pancreatitis preceding acute episodes of thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome: report of five patients with a systematic review of published reports. *Haematologica, European Journal of Haematology* 2007; 92(7): 936-943.
81. McDonald V, Laffan M, Benjamin S, et al. Thrombotic thrombocytopenic purpura precipitated by acute pancreatitis: a report of seven cases from a regional UK TTP registry. *British Journal of Haematology* 2008; 144(3): 430-433.
82. Bernardo A, Ball C, Nolasco L, et al. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell-derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. *Blood* 2004; 104(1): 100-106.
83. Cao W, Niiya M, Zheng X, Shang D, Zheng XL. Inflammatory cytokines inhibit ADAMTS13 synthesis in hepatic stellate cells and endothelial cells. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2008; 6(7): 1233-1235.
84. Ruiz-Torres MP, Casiraghi F, Galbusera M, Macconi D, Gastoldi S, Todeschini M, Porrati F, Belotti D, Pogliani EM, Noris M, Remuzzi G. Complement activation: the missing link between ADAMTS-13 deficiency and microvascular

thrombosis of thrombotic microangiopathies. *Thrombosis and Haemostasis* 2005; 93(3): 443–452.

85. Lotta LA, Valsecchi C, Pontiggia S, Mancini I, Cannav\_o A, Artoni A, Mikovic D, Meloni G, Peyvandi F. Measurement and prevalence of circulating ADAMTS13-specific immune complexes in autoimmune thrombotic thrombocytopenic purpura. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2014; 12(3): 329–336.

86. Scully M, Hunt BJ, Benajmin S, Liesner R, Rose P, Peyvandi F, Cheung B, Machin SJ. Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies. *British Journal of Haematology* 2012; 158(3): 323-335.

87. Veyradier A, Meyer D. Thrombotic thrombocytopenic purpura and its diagnosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2005; 3(11): 2420–2427.

88. George JN, Al-Nouri ZL. Diagnostic and therapeutic challenges in the thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Hematology, American Society of Hematology Education Program*. 2012: 604-609.

89. George JN. Diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome in adults. Retrieved October 14, 2014, from <http://www.uptodate.com>

90. Hawkins BM, Abu-Fadel M, Vesely SK, George JN. Clinical cardiac involvement in thrombotic thrombocytopenic purpura: a systematic review. *Transfusion* 2008; 48(2): 382-392.

91. Hughes C, McEwan JR, Longair I, et al. Cardiac involvement in acute thrombotic thrombocytopenic purpura: association with troponin T and IgG antibodies to ADAMTS 13. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2009; 7(4): 529-536.

92. Peyvandi F, Palla R, Lotta LA, Mackie I, Scully MA, Machin SJ. ADAMTS-13 assays in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2010; 8: 631–640.

93. Shah N, Rutherford C, Matevosyan K, Shen Y, Sarode R. Role of ADAMTS13 in the management of thrombotic microangiopathies including thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP). *British Journal of Haematology* 2013; 163(4): 514-519.

94. Böhm M, Betz C, Miesbach W, Krause M, von Auer C, Geiger H, Scharrer I. The course of ADAMTS-13 activity and inhibitor titre in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura with plasma exchange and vincristine. *British Journal of Haematology* 2005; 129(5): 644-652.

95. Scully M, Goodship T. How I treat thrombotic thrombocytopenic purpura and atypical haemolytic uraemic syndrome. *British Journal of Haematology* 2014; 164(6): 759-766.
96. Coppo P, Wolf M, Veyradier A, Bussel A, Malot S, Millot GA, Daubin C, Bordessoule D, Pène F, Mira JP, Heshmati F, Maury E, Guidet B, Boulanger E, Galicier L, Parquet N, Bernat JP, Rondeau E, Azoulay E, Schlemmer B. Prognostic value of inhibitory anti-ADAMTS13 antibodies in adult-acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *British Journal of Haematology* 2006; 132(1): 66-74.
97. Jin M, Casper TC, Cataland SR, Kennedy MS, Lin S, Li YJ, Wu HM. Relationship between ADAMTS13 activity in clinical remission and the risk of TTP relapse. *British Journal of Haematology* 2008; 141(5): 651–658.
98. Peyvandi F, Lavoretano S, Palla R, Feys HB, Vanhoorelbeke K, Battaglioli T, Valsecchi C, Canciani MT, Fabris F, Zver S, Réti M, Mikovic D, Karimi M, Giuffrida G, Laurenti L, Mannucci PM. ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 antibodies as markers for recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission. *Haematologica, European Journal of Haematology* 2008; 93(2): 232-239.
99. Cataland SR, Shang-bin Yang, Witkoff L, Kraut EH, Lin Shili, George JN, Wu HM. Demographic and ADAMTS13 biomarkers data as predictors of early recurrences of idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica, European Journal of Haematology* 2009; 83(6): 559-564.
100. Knovich MA, Farland A, Owen J. Long-term management of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura using serial plasma ADAMTS13 measurements. *Haematologica, European Journal of Haematology* 2012; 88(6): 518-525.
101. Nguyen, L., Li, X., Duvall, D., Terrell, D.R., Vesely, S.K. & George, J.N. Twice-daily plasma exchange for patients with refractory thrombotic thrombocytopenic purpura: the experience of the Oklahoma Registry, 1989 through 2006. *Transfusion* 2008, 48(2), 349–357.
102. Balduini, C.L., Gugliotta, L., Luppi, M., Laurenti, L., Klersy, C., Pieresca, C., Quintini, G., Iuliano, F., Re, R., Spedini, P., Vianelli, N., Zaccaria, A., Pogliani, E.M., Musso, R., Bobbio, P.E., Quarta, G., Galieni, P., Fragasso, A., Casella, G., Noris, P. & Ascari, E. High versus standard dose methylprednisolone in the acute phase of idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: a randomized study. *Annals of Hematology* 2010; 89(6): 591–596.

103. Chemnitz JM, Hallek M, Scheid C. Long-term efficacy of rituximab treatment in thrombotic thrombocytopenic purpura. *European Oncology & Haematology*, 2011; 7(2): 143-146.
104. Ahmad A, Aggarwal A, Sharma D, Dave HP, Kinsella V, Rick ME, Schechter GP. Rituximab for treatment of refractory/relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura. *American Journal of Hematology* 2004; 77(2): 171-176.
105. Ling HT, Field JJ, Blinder MA. Sustained response with rituximab in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura: a report of 13 cases and review of the literature. *American Journal of Hematology* 2009; 84(7): 418-421.
106. Galbusera M, Bresin E, Noris M, Gastoldi S, Belotti D, Capoferri C, Daina E, Perseghin P, Scheifflinger F, Fakhouri F, Grünfeld JP, Pogliani E, Remuzzi G. Rituximab prevents recurrence of thrombotic thrombocytopenic purpura: a case report. *Blood* 2005; 106(3): 925-928.
107. Yomtovian R, Niklinski W, Silver B, Sarode R, Tsai HM. Rituximab for chronic recurring thrombotic thrombocytopenic purpura: a case report and review of the literature. *British Journal of Hematology* 2004; 124(6): 787-795.
108. Fakhouri F, Vernant JP, Veyradier A, Wolf M, Kaplanski G, Binaut R, Rieger M, Scheifflinger F, Poullin P, Deroure B, Delarue R, Lesavre P, Vanhille P, Hermine O, Remuzzi G, Grünfeld JP. Efficiency of curative and prophylactic treatment with rituximab in ADAMTS13-deficient thrombotic thrombocytopenic purpura: a study of 11 cases. *Blood* 2005; 106(6): 1932-1937.
109. Scully, M., Cohen, H., Cavenagh, J., Benjamin, S., Starke, R., Killick, S., Mackie, I. & Machin, S.J. Remission in acute refractory and relapsing thrombotic thrombocytopenic purpura following rituximab is associated with a reduction in IgG antibodies to ADAMTS-13. *British Journal of Haematology* 2006; 136(3): 451-461.
110. Westwood J-P, Webster H, McGuckin S, McDonald V, Machin SJ, Scully M. Rituximab for thrombotic thrombocytopenic purpura: benefit of early administration during acute episodes and use of prophylaxis to prevent relapse. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2013; 11(3): 481-90.
111. Cataland SR, Jin M, Lin S, Kennedy MS, Kraut EH, George JN, Wu HM. Cyclosporin and plasma exchange in thrombotic thrombocytopenic purpura: long-term follow-up with serial analysis of ADAMTS13 activity. *British Journal of Haematology* 2007; 139(3): 486-493.

112. Cataland SR, Jin M, Ferketich AK, Kennedy MS, Kraut EH, George JN, Wu HM. An evaluation of ciclosporin and corticosteroids individually as adjuncts to plasma Exchange in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *British Journal of Haematology* 2007; 136(1): 146-149.
113. Kappers-Klunne MC, Wijermans P, Fijnheer R, Croockewit AJ, van der Holt B, de Wolf, JT, Lowenberg B, Brand A. Splenectomy for the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *British Journal of Haematology* 2005; 130(5): 768–776.
114. Swisher KK, Terrel DR, Vesely SK, Kremer-Hovinga JA, Lämmle B, George JN. Clinical outcomes after platelet transfusions in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion* 2009; 49(5): 873-887.
115. Lotta LA, Wu HM, Mackie IJ, et al. Residual plasmatic activity of ADAMTS13 correlates with phenotype severity in congenital thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2012; 120(2): 440-448.
116. Gandhi C, Khan MM, Lentz SR, Chauhan AK. ADAMTS13 reduces vascular inflammation and the development of early atherosclerosis in mice. *Blood* 2012; 119(10): 2385-2391
117. Nguyen L, Terrel DR, Duvall D, Vesely SK, George JN. Complications of plasma exchange in patients treated for thrombotic thrombocytopenic purpura. IV. An additional study of 43 consecutive patients, 2005 to 2008. *Transfusion* 2009; 49(2): 392-394.
118. Som S, Deford CC, Kaiser ML, Terrel DR, Hovinga JA, Lämmle B, George JN, Vesely SK. Decreasing frequency of plasma exchange complications in patients treated for thrombotic thrombocytopenia purpura – hemolytic uremic syndrome, 1996-2011. *Transfusion* 2012; 52(12): 2525-2532.
119. Cataland SR, Peyvandi F, Mannucci PM, Lämmle B, Kremer-Hovinga JA, Machin SJ, Scully M, Rock G, Gilbert JC, Yang S, Wu H, Jilma B, Knoebl P. Initial experience from a double-blind, placebo-controlled, clinical outcome study of ARC1779 in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *American Journal of Hematology* 2012; 87(4): 430-432.
120. Feys HB, Roodt J, Vandeputte N, Pareyn I, Mottl H, Hou S, Lamprecht S, Renssberg WJ, Deckmyn H, Vanhoorelbeke K. Inhibition of von Willebrand factor-platelet glycoprotein Ib interaction prevents and reverses symptoms of acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura in baboons. *Blood* 2012; 120(17): 3611-3614.

121. Holz JB. The TITAN trial – Assessing the efficacy and safety of an anti-von Willebrand factor Nanobody in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion and Apheresis Science* 2012; 46(3): 343-346.
122. Schiviz A, Wuersch K, Piskernik C, et al. A new mouse model mimicking thrombotic thrombocytopenic purpura: correction of symptoms by recombinant human ADAMTS13. *Blood*. 2012; 119(25): 6128-6135.
123. Jian C, Xiao J, Gong L, Skipwith CG, Jin SY, Kwaan HC, Zheng LX. Gain-of-function ADAMTS13 variants that are resistant to autoantibodies against ADAMTS13 in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2012; 119(16): 3836-3843.
124. Raife T, Atkinson B, Montgomery R, Vesely S, Friedman K. Severe deficiency of vWF-cleaving protease (ADAMTS13) activity defines a distinct population of thrombotic microangiopathy patients. *Transfusion* 2004; 44(2): 146-150.
125. Benhamou Y, Assie C, Boelle PY, et al. Development and validation of a predictive model for death in acquired severe ADAMTS13 deficiency-associated idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: The French TMA Reference Center experience. *Haematologica, European Journal of Haematology* 2012; 97(8): 1181–1186.
126. Chaturvedi S, Carcioppolo D, Zhang L, McCrae KR. Management and outcomes for patients with TTP: analysis of 100 cases at a single institution. *American Journal of Hematology* 2013; 88(7): 560-565.
127. Wyllie BF, Garg AX, Macnab J, Rock GA, Clark WF. Thrombotic thrombocytopenic purpura/haemolytic uraemic syndrome: a new index predicting response to plasma exchange. *British Journal of Haematology* 2005; 132(2): 204-209.
128. Widemann A, Pasero C, Arnaud L, Poullin P, Loundou AD, Choukroun G, Sanderson F, Lacroix R, Sabatier F, Coppo P, Dignat-George F, Kaplanski G, for the Endo-13 Study Group. Circulating endothelial cells and progenitors as prognostic factors during autoimmune thrombotic thrombocytopenic purpura: results of a prospective multicenter French study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2014; 12(10): 1601–1609.
129. Bettoni G, Palla R, Valsecchi C, Consonni D, Lotta LA, Trisolini SM, Mancini I, Musallam KM, Rosendaal FR, Peyvandi F. ADAMTS-13 activity and autoantibodies classes and subclasses as prognostic predictors in acquired thrombotic



thrombocytopenic purpura. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2012; 10(8): 1556–1565.

130. Lotta LA, Mariani M, Consonni D, Mancini I, Palla R, Maino A, Vucelic D, Pizzuti M, Mannucci PM, Peyvandi F. Different clinical severity of first episodes and recurrences of thrombotic thrombocytopenic purpura. *British Journal of Haematology* 2010; 151(5): 488-494.

131. Kennedy KA, Lewis QF, Scott JG, et al. Cognitive deficits after recovery from thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion*. 2009; 49(6): 1092-1101.

132. Lewis QF, Lanneau MS, Mathias SD, et al. Long-term deficits in health-related quality of life following recovery from thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion* 2009; 49(1): 118-124.